Aus der Chirurgischen Klinik des Klinikums Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
Gastroenterologische Arbeitsgruppe
Leiter: Prof. Dr. Hans G. Beger

Einfluß von Endotoxin gramnegativer Bakterien auf den Verlauf der akut-nekrotisierenden Pankreatitis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gertrud Reetz
aus St. Martin

1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547201_0069

Aus der Chirurgischen Klinik des Klinikum Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
Gastroenterologische Arbeitsgruppe
Leiter: Prof. Dr. Hans G. Beger

Einfluß von Endotoxin gramnegativer Bakterien auf den Verlauf der akut-nekrotisierenden Pankreatitis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gertrud Reetz
aus St. Martin

Referent: Herr Prof. Dr. Hans G. Beger
Korreferent: Frau Prof. Dr. Meta Alexander

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 17.9.85

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
	Zusammenfassung/Abstract	VI
1.	EINLEITUNG	1
1.1	Die akut-nekrotisierende Pankreatitis ..	1
1.1.1	Die Rolle der Darmbakterien bei der akut-nekrotisierenden Pankreatitis	5
1.2	Die Endotoxine gramnegativer Bakterien .	7
2.	FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	10
3.	METHODE	12
3.1	Untersuchungsverfahren	12
3.1.1	Laborchemische und physikalische Untersuchungen	12
3.1.2	Bakteriologie	13
3.1.3	Endotoxinbestimmung	13
3.1.3.1	Phenolwasserextraktion von LPS	14
3.1.3.2	Endotoxinbestimmung durch den LAL-Test .	15
3.1.3.3	Chemikalien und Geräte für den LAL-Test und die Phenolwasserextraktion	17
3.2	Pankreatitisbewertung	17
3.3	Auswertungsparameter	20
3.4	Statistik	22
4.	PATIENTENGUT	24
5.	THERAPIE UND VERLAUF	28
5.1	Operative Therapie	28
5.2	Postoperative Therapie und Verlauf	28
5.3	Letalität	32

Seite

6.	ERGEBNISSE	34
6.1	Pankreatitisstatus	34
6.1.1	Klinische Stadien	34
6.1.2	Ausmaß der Nekrosen	35
6.1.3	Komplikationen	36
6.2	Ergebnisse der Untersuchung auf Endotoxin	38
6.2.1	Endotoxinbefund in der Nekrose und/oder dem pankreatischen Ascites	38
6.2.2	Endotoxinbefunde im gesamten post-operativen Untersuchungszeitraum	40
6.2.2.1	Endotoxinnachweis in den ersten 48 Stunden postoperativ	41
6.2.2.2	Endotoxinbefunde im gesamten Untersuchungszeitraum	42
6.3	Endotoxinbefund und Keimnachweis in der Pankreasnekrose und dem Ascites	45
6.3.1	Endotoxinbefund im postoperativen Verlauf und Organkomplikationen	45
6.3.2	Nachweis von Endotoxin im venösen Blut im postoperativen Verlauf und Beziehung zu Organkomplikationen	46
6.4	Endotoxin und ausgewählte laborchemische Parameter	48
6.5	Endotoxinnachweis und Letalität	49
6.5.1	Endotoxinbefund in der Pankreasnekrose und Letalität	49
6.5.2	Endotoxinbefund im postoperativen Zeit-raum und Letalität	50
6.6	Endotoxinbefunde in den ersten 48 Stunden postoperativ im venösen Blut und/oder Ascites als prognostischer Faktor für Komplikationen und Letalität	51

Seite

7. ZUSAMMENFASSUNG UND ERGEBNISSE 54

8. DISKUSSION 59

9. BEANTWORTUNG DER EINGANGS GESTELLTEN FRAGEN 64

10. LITERATURVERZEICHNIS 67

LEBENSLAUF

Abstract

The occurence and influence of endotoxin from gram-negative bacteria on beginning and development of acute necrotic pancreatitis were investigated during a prospective clinical study of 17 respectively 24 patients. The endotoxin was determined in bodyfluidy by the LAL-test (Limulus Amoebocyte Lysate-test). In addition the extraction method with phenol was chosen to isolate endotoxin from protein-containing solutions.

Samples for endotoxin analysis were taken intraoperatively from the pancreas necrosis and postoperatively from venous blood and peritoneal fluid several times with fixed intervals. The obtained endotoxin results were set into relation with the clinical developments of the illness.

Five out of 24 patients intraoperatively showed an extension of pancreas necrosis up to 30%, 11 up to 50%, 3 up to 75% and 5 up to 100%. The endotoxin evidence in the pancreas necrosis was positive for 80% of the patients. Regarding the size of necrosis a similar distribution of the positive cases was observed both for partial and subtotal necrosis.

During der postoperative development 50-70% of the patients showed positive endotoxin evidence in their venous blood as well as ascites. A significance correlation was detected between the degree of illnes respectively mortality and the endotoxin determination in venous blood and ascites.

Key words: Acute necrotizing pancreatitis - endotoxin - LAL-Test - phenol-water-extraction

Zusammenfassung

Es wurde das Vorkommen und der Einfluß von Endotoxin gramnegativer Bakterien auf den Verlauf der akut-nekrotisierenden Pankreatitis anhand einer klinischen Studie untersucht. Die Bestimmung von Endotoxin in proteinhaltigen Lösungen wurde durch die Phenolwasserextraktion, vor der Durchführung des LAL-Tests, empfindlicher und zuverlässiger. Es wurden 24 bzw. 17 Patienten mit akut nekrotisierender Pankreatitis intraoperativ in der Nekrose und postoperativ im venösen Blut und Ascites in definierten Abständen auf Endotoxin untersucht. Von den 24 Patienten hatten 5 intraoperativ eine Pankreasnekroseausbreitung von 30%, 11 von 50% und 8 von 75 bis 100%. In der Pankreasnekrose hatten insgesamt 80% der Patienten einen positiven Endotoxinbefund. Im postoperativen Verlauf hatten 50-70% der Patienten im venösen Blut und/oder Ascites positive Endotoxinbefunde. Eine signifikante Korrelation ergab sich zwischen der Schwere der Erkrankung bzw. Letalität und der Endotoxinpositivität im peripher-venösen Blut und Ascites.

Schlüsselworte: akut-nekrotisierende Pankreatitis - gramnegative Keime - Endotoxin - Phenolwasserextraktion - LAL-Test

1. EINLEITUNG

1.1 Die akut-nekrotisierende Pankreatitis

Die akute Pankreatitis ist eine nicht häufige, aber wegen ihres klinisch nur bedingt einschätzbaren Verlaufes problematische Erkrankung.

In der Mehrzahl der Fälle verläuft sie unter dem pathologisch-anatomischen Bild einer ödematös-entzündlichen Pankreatitis, die sich in der Regel unter konservativer Therapie vollständig zurückbildet. Bei einem Teil der Patienten entsteht jedoch aus bisher nicht bekannten Gründen eine nekrotisierende bzw. hämorrhagisch-nekrotisierende Verlaufsform, die durch schwere lokale und systemische Komplikationen sowie hohe Letalität (50-70%) gekennzeichnet ist (1, 2, 3). Nach klinischen Parametern sind beide Formen der Pankreatitis in der Anfangsphase nur schwer zu differenzieren, was zu Problemen bei der rechtzeitigen Diagnosestellung und Einleitung adäquater Therapiemaßnahmen führen kann (4, 5).

Pathologisch-morphologisches Korrelat der schweren Pankreatitis ist die Nekrose des Drüsenparemchyms (6). Je nach Ausprägung, Geschwindigkeit der Lyse des Pankreas und der extrapankreatischen Ausdehnung des Krankheitsprozesses kommt es zu gastro-intestinalen Komplikationen wie Ileus, Abszesse, Stenosen und Fisteln. Gleichzeitig entwickeln sich durch die systemische Zirkulation von toxischen und vasoaktiven Substanzen multiple extrapankreatische Organkomplikationen bis zum Schock (1, 4, 7, 8, 9). Die Anfangsphase der nekrotisierenden Pankreatitis ist systemisch im wesentlichen durch Hypovolämie und sekundäres Nierenversagen gekennzeichnet. Im folgenden kommt es zur sogenannten Frühintoxikation

der kardiozirkulatorischen, pulmonalen und renalen Systeme durch Substanzen aus der Pankreasnekrose. Die Spätintoxikation ist geprägt durch Abszeßbildung im Nekrosebereich und septisches Krankheitsgeschehen. In allen Phasen der Erkrankung kommt es insbesondere durch Schocksymptomatik zu letalen Verläufen (10, 11, 12, 13). Zur Verringerung der Letalität trug in den letzten Jahren die Einführung der Peritoneallavage neben der operativen Sanierung des Pankreas bei.

Die Bedeutung der kontinuierlichen Peritonealspülung liegt im wesentlichen in der Überbrückung der frühen toxischen Krankheitsphase zur Verzögerung des Operationszeitpunktes (1, 11). Wie auch bei der Peritonitis (14, 15), erfolgt durch Ausspülung von toxischen und vasoaktiven Substanzen aus dem Peritoneum eine Reduzierung des Einstroms von Toxinen in die Blutzirkulation. Untersuchungen zufolge ist kurz nach Ausbildung der Pankreasnekrose die Konzentration von Trypsin, Bradykinin, Polypeptiden, Prostaglandinen, Histamin und Toxinen im Ascites und peripheren Blut am höchsten (2). Durch die Bauchspülung war eine Besserung des Allgemeinzustandes und Schmerzminderung sowie eine Senkung der respiratorischen und kardiovaskulären Komplikationen erreicht worden. Konnte durch die Peritonealspülung eine Senkung der Frühletalität erzielt werden, so war die Gesamtletalität nicht vermindert (11, 16, 17, 18). Die operative Sanierung des Pankreas, in der Regel durch Nekrotektomie, ist heute allgemein anerkannt (2). Ziel ist die Entfernung der Nekrosen im Pankreas und Retroperitoneum sowie die Entleerung der intraperitonealen Sekrete mit toxischen und vasoaktiven Substanzen (2). Beger u.a. (2, 11) betont die Bedeutung der postoperativen lokalen Spül-Saug-Drainage der Pankreas-

loge im Falle regionaler Peritonitis bei retroperitonealer Abzedierung.

Nach Kümmerle wäre der theoretisch günstigste Zeitpunkt zum operativen Eingriff unmittelbar nach Entstehen der Nekrose und vor dem Auftreten manifester Komplikationen (9, 20). Das rechtzeitige Erkennen eines nekrotisierenden Verlaufes hat sich in der Vergangenheit als problematisch erwiesen. Da es bisher keine nekrosespezifischen Symptome oder laborchemische Parameter gibt, ist dieser Zeitpunkt nur indirekt ableitbar. Kümmerle und Schönborn haben in ihrer Klassifizierung des Schweregrades der Pankreatitis durch klinische und laborchemische Parameter versucht, eine Unterscheidung in nekrotisierende und nicht nekrotisierende Verläufe vorzunehmen (9, 19, 20). Ranson hat sich bei seiner Einteilung in leichte und schwere Verläufe aufgrund von Laborparametern an der Fragestellung einer intensivmedizinischen Behandlung orientiert (21, 22). Beiden Methoden ist gemeinsam, daß die Nekrotisierung erst an den systemischen Folgen und damit im fortgeschrittenen Stadium erkannt wird.[1)]

Entscheidend für eine weitere Verbesserung der therapeutischen Maßnahmen und Senkung der Letalität wäre die frühzeitige und sichere Feststellung nekrotisierender Krankheitsverläufe.

Ätiologie und insbesondere Pathogenese der akuten Pankreatitis sind weitgehend ungeklärt. Als wesentliche

---

1) Auf computertomographische und sonographische Diagnostik soll hier nicht eingegangen werden.

ätiologische Faktoren gelten biliäre, postoperative und idiopathische Ursachen. Verläuft die alkoholtoxische Pankreatitis im Intervall als chronische Erkrankung, so zeigt sich im akuten Schub kein Unterschied zu akut-nekrotisierenden Pankreatitiden (5, 6, 23, 24).

Chiari fand 1886, daß die Autodigestion der Drüse durch pankreaseigene Fermente erfolgt (in 25). Als pathogenetisches Prinzip der Autodigestion wurden seit Beginn dieses Jahrhunderts folgende drei allgemein anerkannte Theorien herausgearbeitet: die Theorie des gemeinsamen Ganges, die Obstruktionshypersekretionstheorie und die Theorie des duodenalen Refluxes. Damit konnte in den meisten Fällen die auslösende Ursache nicht zureichend geklärt werden (23).

Die Vorstellungen über intrapankreatische Vorgänge vor und während der Entzündung sind überwiegend geprägt von der Hypothese der Autodigestion durch körper- und insbesondere drüseneigene Enzyme. Die meisten Untersuchungen zielten bisher darauf ab, das für die Cytolyse wesentliche Enzym zu differenzieren (26, 27). Nach den Untersuchungen von Schmidt/Creutzfeldt (28) erfolgt die Nekrotisierung im wesentlichen durch die Phospholipase A sowie Lysolecithine. Auch Wanke (in 23) schreibt, nach Auslösung einer lokalen Acidose, lysosomalen Enzymen eine entscheidende Rolle zu. Becker (30) betont die Induktion der Nekrotisierung durch das Zusammenspiel aller Pankreasenzyme. Die früher vertretene Theorie der Nekroseauslösung allein durch Trypsin wurde in späteren Untersuchungen widerlegt (25).

Neue Aspekte ergaben die Untersuchungen von Seelig et al., die eine Aktivierung des Komplementsystems u.a. durch Endotoxin als mögliche Ursache der Nekrotisierung

analysierten (31, 32, 33, 36). In den letzten Jahren wurden im Rahmen mehrerer Untersuchungen toxinbildende Bakterien und Endotoxine als auslösende bzw. beeinflussende Faktoren bei nekrotisierender Pankreatitis gefunden. Die Ergebnisse der einzelnen Studien werden im nächsten Abschnitt dargestellt.

1.1.1 Die Rolle der Darmbakterien bei der akut-nekrotisierenden Pankreatitis

Der Einfluß der Darmbakterien bei akuter Pankreatitis wurde von den meisten Autoren nur im Zusammenhang mit Komplikationen wie Abszedierung, Sepsis usw. diskutiert (6, 11, 12, 16). Bei einigen experimentellen Untersuchungen zeigten sich jedoch die Darmbakterien, insbesondere E.coli, als ätiologischer oder wesentlich verlaufsbestimmender Faktor bei der Entwicklung der nekrotisierenden Pankreatitis. Dragstedt u.a. (in 25) berichtete bereits 1934, daß nur infiziertes Pankreassekret bei intraperitonealer Injektion toxisch gewesen sei. Thal u.a. (37) injizierte verschiedene Bakteriensuspensionen intraduktal. Nekrotisierende Pankreatitiden konnte er durch toxinbildende Keime wie E. coli auslösen. Byrne und Joison (38) bestätigten in ihrer Untersuchung die bakterielle Genese der nekrotisierenden Pankreatitis. Durch intraduktale Antibiotikagabe bei einem Teil der Versuchstiere konnte die Lyse der Drüse verhindert werden. Williams und Byrne (39) fanden bei ihrer Untersuchung die Notwendigkeit des Zusammenspiels von E.coli, Blut und Trypsin für die Entwicklung einer nekrotisierenden Pankreatitis.

Im Gegensatz zu den vorherigen Untersuchungen konnten Nance u.a. (40) auch an keimfreien Hunden experimentell

Pankreasnekrosen auslösen. Auffällig war jedoch, daß nur Pankreassekret von infizierten Hunden bei weiteren Versuchstieren nach intraduktaler Gabe Nekrotisierungen bewirkte (in 25).

Die umfassendste neuere Untersuchung auf diesem Gebiet führte Keynes (25, 41) 1980 durch. An 18 Hunden untersuchte er die Wirkung der Injektion von steriler oder durch Faeces infizierter Galle in den Pankreasgang. Bei den Hunden mit steriler Galle entwickelte sich eine interstitielle Pankreatitis, bei sechs von sieben Hunden mit infizierter Galle entstand eine hämorrhagische Pankreatitis. Von 87 Hunden mit experimenteller Pankreatitis nach dem Pfeffermechanismus entwickelten 47 Hunde eine hämorrhagische Pankreatitis. Die Untersuchung auf Bakterien erbrachte E.coli und weitere Darmbakterien wie C.welchii, Clostridien usw. Im Gegensatz zu den Hunden mit interstitieller Pankreatitis hatten alle Hunde erhöhte Amidasewerte im Blut, in der Lymphe und im Peritonealexsudat. Die Amidase erwies sich bei der Untersuchung als bakterienspezifisch. Folgerichtig ließ sie sich durch Neomycin und nicht durch Trypsininhibitoren suprimieren.

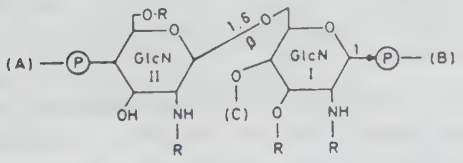
Aus der Untersuchung ergab sich, daß Darmbakterien, insbesondere E.coli, hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitiden auslösen können. Die systemischen Komplikationen wie Nieren- und Pulmonalinsuffuzienz und besonders Schock lassen sich nach Keynes (25) durch die Wirkung von bakteriellen Endotoxinen erklären.

1.2 Die Endotoxine gramnegativer Bakterien

Struktur und Wirkungsweise der Endotoxine gramnegativer Bakterien sind in den letzten Jahren vielfach untersucht worden.

Endotoxine sind Bestandteile der Zellwand und gleichzeitig Träger der serologischen Spezifität gramnegativer Bakterien. Alle Endotoxine haben die gleiche biologische Wirkung und sind nach einem einheitlichen Prinzip als Lipopolysaccharid-Protein-Komplex (LPS) gebaut. Erkrankungen auf Basis dieser Toxine werden spezifischer als Endotoxinämie oder Endotoxikosen bezeichnet (15).

Chemisch besteht das Endotoxin (LPS) aus drei Untereinheiten: dem O-Antigen, dem Kernpolysaccharid und dem Lipid A, welches das toxische Prinzip darstellt. Das Lipid A zeigt bei verschiedenen Bakterienarten eine ähnliche Zusammensetzung. Die Grundstruktur besteht generell aus phosphorylierten Glukosamin-Disaccharid-Einheiten mit ß-1,6.glykosidischer Verknüpfung. An die Amino- und Hydroxygruppen sind ß-Hydroxymyristin- bzw. Fettsäuren gebunden (59, 60, 62, 67, 68).



General structure of lipid A's. (A), (B) and (C) substituents of the lipid A backbone; R (and in most cases C) = fatty acid residues.

Abbildung 1: Generelle Struktur von Lipid A, aus (60)

Die Freisetzung der Endotoxine erfolgt im Körper durch Zellzerfall und Zellteilung. Das größte Reservoir stellen die Darmbakterien dar, denen auch für die Entstehung der nekrotisierenden Pankreatitis eine Bedeutung zugeschrieben wird (25). Die Darmmucosa wirkt physiologischerweise als Barriere. In das Portalvenenblut übergegangenes Endotoxin wird in den Kupferschen Sternzellen der Leber phagozytiert. Bei lokaler oder diffuser Peritonitis gelangt Endotoxin aus dem Peritoneum über das Lymphsystem, nach Überschreiten der Clearancekapazität des RES auch über das Pfortaderblut in die Zirkulation (15, 43, 56). Lokale Bedeutung kommt der transmuralen Penetration des Endotoxins zu, insbesondere bei Entzündungen (64).

In Abhängigkeit vom Ausmaß der Endotoxinämie, der zirkulierenden Antikörper und Phagozyten sowie der Anwesenheit bzw. Freisetzung von Mediatoren, entwickelt sich eine Endotoxikose oder ein Endotoxinschock. Urbascheck (55, 63) zeigte in diesem Zusammenhang den potenzierenden Effekt von biogenen Aminen wie Histamin und Serotonin auf die Endotoxinwirkung.

Das Endotoxin beeinflußt in vielfältiger Weise direkt bzw. indirekt, vermittelt über Pyrogene (69), Kinine, Histamine, Serotonine (55, 63), Komplement (31, 32, 33, 36) und Prostaglandine (70) den Organismus (75).

Die durch das Endotoxin verursachten Wirkungen auf den Organismus werden gefürchtet als septische Krankheitsbilder mit pyrogenen Reaktionen, Gerinnungsstörungen, Blutbildveränderungen und toxischen Schädigungen von Organen wie Lunge, Niere, Pankreas, Kreislauf bis zur Schocksymptomatik (55, 56, 57, 66, 69).

Spezifisch für die Endotoxinwirkung in der Frühphase ist die Freisetzung von biogenen Aminen, Anaphylatoxinen (83) und Komplementaktivierung. Neben einem Thrombozyten- und Leukozytensturz treten insbesondere Störungen der Mikrozirkulation mit Mikrothrombenbildung im Bereich der terminalen Strombahnen auf. Die in der Manifestationsphase auftretenden Gerinnungsstörungen sind durch disseminierte Thrombosierungen, toxische Thrombopenien (71), multifaktorielle Gerinnungsaktivierung, Defibrinierung bis zu Zuständen mit gesteigertem Umsatz von Fibrinogen, gekennzeichnet (72).

In der Spätphase, auch Phase der Zweitkrankheit genannt (15), treten multiple Organschädigungen an Lunge, Niere und Gastrointestinaltrakt in den Vordergrund.

Während der Beginn der Nierenschädigung bereits in der Frühphase durch Läsionen der Gefäßendothelien, renale Vasokonstriktion und kortiko-medulläre Blutverteilung erfolgt, entstehen in der Spätphase zusätzlich Tubulusnekrosen durch Fibrinablagerungen und hyaline Thromben in den Präcapillaren.

Auch im Lungengewebe imponieren Schädigungen der Gefäßendothelien. Es kommt zum interstitiellen und alveolären Ödem, zu einer Verminderung des Blutaustausches und in Verbindung mit einem Alveolenkollaps bei Surfactantmangel zur Schocklunge.

2. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT

In den letzten Jahren wurde bei tierexperimentellen und wenigen klinischen Studien eine Beteiligung von Endotoxin (LPS) gramnegativer Bakterien an der Entwicklung und dem Verlauf der akuten Pankreatitis festgestellt. Bei den bisher vorliegenden klinischen Arbeiten wurde Endotoxin nur an einem Tag der Erkrankung im venösen Blut bestimmt. Aussagen über das Vorkommen von Endotoxin im Pankreas und im Ascites liegen nicht vor. Zum Endotoxinnachweis wurde hier die Phenolwasserextraktion von LPS aus proteinhaltigen Lösungen, zusammen mit dem LPS-Nachweis durch den LAL-Test gewählt (45, 73, 74, 75, 76).

Um zuverlässige Aussagen über das Vorkommen von Endotoxin bei akut-nekrotisierender Pankreatitis zu erhalten, erfolgte die Bestimmung intraoperativ aus dem entnommenen Nekrosematerial und postoperativ aus venösem Blut und Ascites über mehrere Tage, wobei aufgrund der Tagesschwankungen der Endotoxinausschüttung mehrere Messungen pro Tag durchgeführt wurden (45).

Im zweiten Teil der Arbeit soll die Korrelation zwischen positiven Endotoxinbefunden in der Nekrose, dem venösen Blut und Ascites sowie der Schwere der Erkrankung bzw. Letalität untersucht werden. Als typisch für die Endotoxinwirkung im Körper wird das Auftreten von Komplikationen an mehreren Organsystemen gleichzeitig gewertet.

Die weitere Analyse bezieht sich auf die prognostische Bedeutung von Endotoxin im venösen Blut und Ascites für den gesamten Krankheitsverlauf.

Für die Arbeit ergeben sich somit folgende Fragestellungen:

a) Häufigkeit von Endotoxin (LPS) bei nekrotisierender Pankreatitis
   - in der Nekrose
   - im venösen Blut
   - im Ascites

b) Endotoxin, Häufigkeit von Verlaufskomplikationen und Bewertung der Prognose bei nekrotisierender Pankreatitis
   - Ergibt sich ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Endotoxin im Körper und dem Verlauf der Erkrankung?
   - Hat ein positiver Endotoxinbefund im frühen Krankheitsverlauf prognostische Bedeutung?
   - Lassen sich endotoxintypische Veränderungen an Leukozyten, Thrombozyten, Kreatinin und Temperatur feststellen?

3. METHODE

3.1 Untersuchungsverfahren

An Untersuchungsverfahren wurden laborchemische und physikalische, mikrobiologische sowie klinische Methoden verwandt.

3.1.1 Laborchemische und physikalische Untersuchungen

Mit der ersten Endotoxinabnahme pro Tag wurde gleichzeitig die Körpertemperatur rektal gemessen, venöses Blut zur Bestimmung von Thrombozyten, Leukozyten und Kreatinin abgenommen und folgendermaßen ermittelt:

- Blutzellzählung

  Leukozyten:
  Die Bestimmung der Leukozyten erfolgte automatisch im Coulter Counter.
  Die relative Standardabweichung beträgt 2%.
  Der Normbereich geht von 4 - 10.000 Leukozyten/mm^3 Blut.

  Thrombozyten:
  Die Zählung wurde nach der Methode von Brecher und Cronkite in einer Zählkammer mit einem Phasenkontrastmikroskop durchgeführt.
  Normbereich: 120.000 - 300.000 mm^3

- Kreatininbestimmung

  Die Kreatininkonzentration im Serum wurde mittels automatischer Analyse nach Chasson et al. bestimmt.
  Normwert: 0,5 - 1 mg%

- Temperatur

  Die Temperatur wurde mit einem Quecksilberthermometer rektal gemessen.

  Normbereich: 36 - 37° C

- Blutgase

  Die Blutgase wurden mit dem Automatik-Gas-Check 940 der Fa. AVL/Debumell im art. Blut bestimmt.

  Normwerte: P_aCO_2 37 - 49 mm Hg

  P_aO_2 80 - 100 mm Hg

3.1.2 Bakteriologie

Es wurden bakteriologische Untersuchungen der Pankreasnekrose sowie der Bauchhöhlenspülflüssigkeit intra- und postoperativ durchgeführt. Das Material wurde unter sterilen Bedingungen abgenommen und dem Institut für Mikrobiologie der Freien Universität Berlin (Prof. Dr. Hahn) zugesandt. Die aerobe Anzüchtung erfolgte auf Blutagar mit Hammelblut, Endoagar, Azidagar, Sabouraud-Agar und Dextroseboullion. Die aerobe Anzüchtung erfolgte mit Schädleragar und Hammelblut, Thioglykolatboullion gemäß den Routineanzüchtungen im Institut für Mikrobiologie (77, 78).

3.1.3 Endotoxinbestimmung

Der direkte Nachweis von bakteriellem Endotoxin durch die Agglutination von Limulus Amöbocyten wurde 1964 durch Levin und Bang erbracht (74). Das Lipid A des Endotoxins aktiviert in Gegenwart von Calcium ein "proclotting enzym", das durch hydrolytische Spaltung eine Agglutination des Amöbocyten katalysiert. Es entstehen

drei Peptide, die sich im Wasser zu einem Gel vernetzen und so direkt nachweisbar sind (43, 45, 74). Durch Verdünnungsreihen und Vergleich mit einem Endotoxinstandard läßt sich neben der qualitativen Bestimmung auch eine halbquantitative Bestimmung durchführen (43, 45). Die Spezifität des LAL-Testes ist hoch (73). Die Empfindlichkeit der Methode liegt bei 0,1 ng/ml, d.h. unter der Pyrogenität verursachenden Schwelle (73, 84). Ein Endotoxinstandard ist zum Nachweis aller bakteriellen Endotoxine geeignet, in einer Untersuchungsserie muß zur Vergleichbarkeit derselbe Standard verwendet werden (74).

3.1.3.1 Phenolwasserextraktion von LPS

Die Bestimmung von LPS wird im nativen Plasma durch Inhibitoren wie Antibiotika, Trypsin, Nukleotide und Plasmaproteine gehemmt (45, 74, 84). Die Extraktion von Endotoxin aus proteinhaltigen Lösungen erfolgt üblicherweise mit Phenolwasser (76, 81, 82) oder Chloroform (74). Für diese Arbeit wurde die Phenolwasserextraktion von LPS nach Westphal (81, 82) gewählt. Die Empfindlichkeit der Methode ist hoch. Nach Durchführung finden sich noch weniger als 1 mg/ml Proteine in der Lösung.

Die im Bereich über 69°C monophasische Phenolwasserlösung extrahiert das LPS aus der Bakterienwand. Beim Abkühlen unter 69°C trennen sich die Phenol- und die Wasserphase, d.h. durch die selektive Löslichkeit werden die beiden Stoffe - LPS in Wasser und Protein in Phenol - voneinander getrennt (76, 81, 82).

Zur praktischen Durchführung der Phenolwasserextraktion von LPS aus Plasma und Nekrosematerial wird das Verfahren leicht modifiziert (vgl. Abb.2).

Es werden 0,5 ml proteinhaltiger Lösung mit 2 ml bei 69-70°C monophasischer Phenolwasserlösung in einem verschließbaren Polyäthylenreagenzglas vermischt, mit einem Vortexgerät durchgeschüttelt und 15 Minuten bei 69°C in einem Heizblock inkubiert. Nach langsamer Abkühlung auf 4°C erfolgt die Trennung der Phasen in die Wasserphase, die Zwischenphase und die viskös-gelbliche Phenolphase.

Durch Zentrifugation (2000 x G / 10 Minuten) erfolgt die Forcierung der Phasentrennung. Der wässrige Überstand wird mit einer Pasteurpipette sorgfältig abpipettiert, der Extraktionsvorgang mit dem Plasmaphenolgemisch zweimal wiederholt.

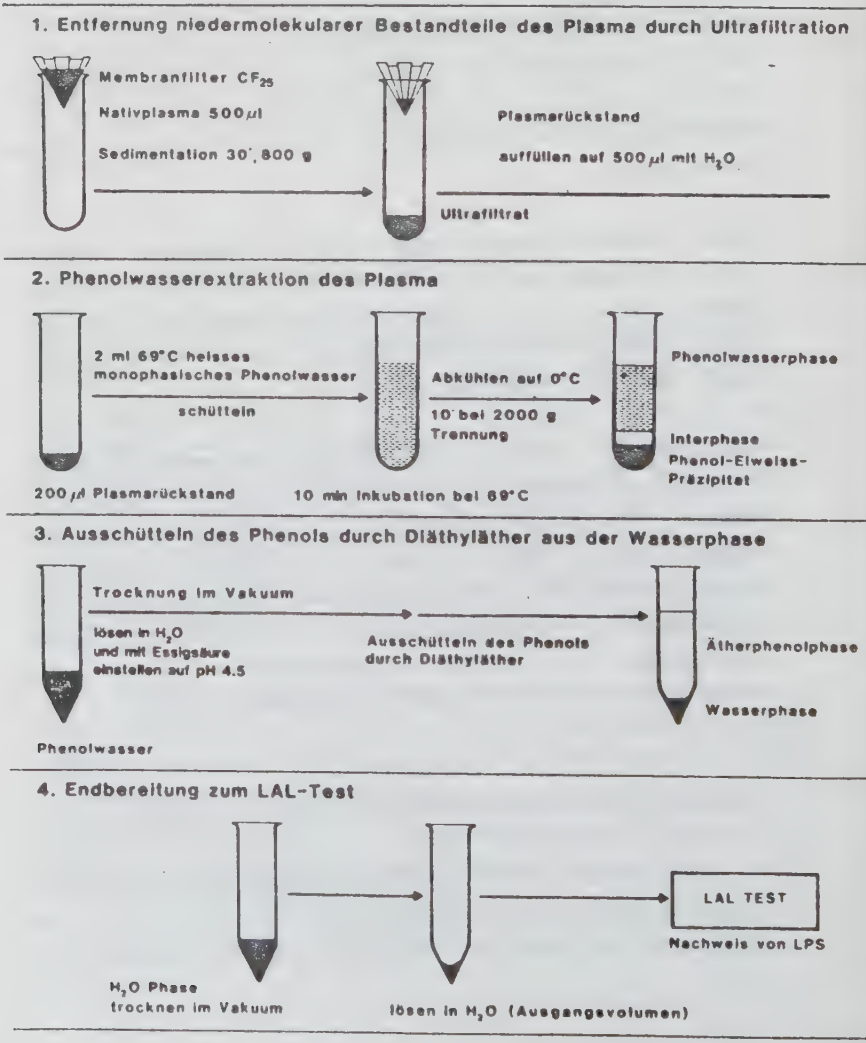
Anschließend erfolgt die Trocknung der wässrigen phenolhaltigen Lösung im Exsikkator über NaOH-Plätzchen im Vakuum. Der Niederschlag wird in 200 ul pyrogenfreiem Wasser gelöst. Zur Extraktion des Phenols wird die Lösung dreimal in 5 ml Diäthyläther ausgeschüttelt und im Exikkator, wie beschrieben, getrocknet. Der Reaktionsansatz wird in 500 ul pyrogenfreiem Wasser, dem Ausgangsvolumen, zur Endotoxinbestimmung gelöst.

3.1.3.2 Endotoxinbestimmung durch den LAL-Test

In vorgewärmte sterilisierte Reagenzgläschen werden 20 ul der Probe und 20 ul Amöbocytenlysat pipettiert. Das pH-Optimum der Reaktion liegt bei 5,5-7,5. Durch vor-

Abbildung 2:

Phenolwasserextraktion von Endotoxin aus Plasma



sichtiges Antippen wird der Ansatz gemischt und 60 Minuten bei 37°C im Heizblock inkubiert.

Danach werden die Röhrchen mit der Probe vorsichtig herausgenommen und ohne Unterbrechung um 180° gedreht. Hat sich während der Reaktionszeit ein festes Gel gebildet und bleibt dieses beim Umdrehen bestehen, wird das Ergebnis als positiv gewertet. Ablaufen oder Flokkung der Flüssigkeit gilt als negative Reaktion.

Zur Positivkontrolle dient der Endotoxinstandard in den Konzentrationen von 10^{-9} - 10^{-11} g/ml, der mit Amöbocytenlysat inkubiert wird (84). Mit der kleinsten positiven Endotoxinkonzentration war der Nachweis für die halbquantitative Endotoxinbestimmung gegeben.

Die Negativkontrolle erfolgte mit dem für die Verdünnungsreihen benutzten pyrogenfreien Wasser.

3.1.3.3 Chemikalien und Geräte für den LAL-Test und die Phenolwasserextraktion

Äther pro Narcosi, Höchst AG, Frankfurt
Endotoxin "Novo Pyrexal", Hermal-Chemie, Hamburg
LAL, Limulus Amöbocyten Lysat "Pyrogent", Byk Mallinckrodt, Dietzenbach
Aqua pro Injektione, Braun, Melsungen
Natrium Azid, pro analysi, Merck, Darmstadt
Physiologische Kochsalzlösung 0,9%, Braun, Melsungen
Phenol wasserfrei, pro analysi, Merck, Darmstadt
Reagensgläschen 6 x 50 mm, Bergmann, Berlin
Metallblockthermostat, Liebich, Berlin
Schüttelmixer, Nr. 5432, Eppendorf, Hamburg
Meßpipetten, Reaktionsgefäße, Eppendorf, Hamburg

Laborzentrifuge, Eppendorf, Hamburg
Sterilisierung der Kunststoffgefäße mit Äthylendioxid,
der Glasgefäße mit Hitze (250°C)

3.2 Pankreatitisbewertung

Die Bewertung des Pankreatitisschweregrades wurde vorgenommen auf Basis klinischer und laborchemischer Befunde.

Die Beurteilung des Schweregrades erfolgte zum Zeitpunkt der Op.-Entscheidung nach den Kriterien von Kümmerle und Schönborn (Abb.3), da bei dieser Typologie der Zusammenhang zwischen klinisch-biochemischem Parameter und Nekroseausdehnung im Vordergrund steht (19, 20).

Die Einteilung der Schweregrade zeigt die folgende Übersicht:

Schweregrad I: überwiegend ödematöse Form mit mäßigem Lokalbefund, Fermententgleisung und gutes Ansprechen auf konservative Therapie
Schweregrad II: Verlaufsform mit partieller Nekrotisierung des Pankreas, ausgeprägter Lokalbefund, kurzdauernde, nur mäßige Fermententgleisung und fehlendes oder nur kurzes Ansprechen auf konservative Therapiemaßnahmen
Schweregrad III: Verlaufsform mit Totalnekrose des Pankreas, schwerer Lokalbefund mit vitalbedrohlichen Komplikationen und 100% Letalität bei konservativer Therapie
Schweregrad I-II: Kriterien des Stadiums I und je nach prognostischer Relevanz ein bis drei Kriterien des Stadiums II
Schweregrad II-III: Kriterien des Stadiums II und zwei bis drei der biochemischen Parameter und /oder ein bis zwei Organkomplikationen des Stadiums III

Einteilung der akuten Pankreatitis nach Schweregraden

Schweregrad I (leicht) ödematöse Form		Schweregrad II (mittelschwer) partiell nekrotisierende Form		Schweregrad III (schwer) Totalnekrosen	
Klinik	Labor	Klinik	Labor	Klinik	Labor
Oberbauchbeschwerden mit oder ohne Erbrechen Druckschmerz am Oberbauch, eventuell mit leichter Abwehrspannung im Oberbauch	Fermententgleisung Amylase Lipase	Oberbauchbeschwerden mit oder ohne Erbrechen, generalisierter Druckschmerz mit Punctum maximum im Oberbauch, deutliche Abwehrspannung im Oberbauch, Meteorismus, keine oder spärliche Darmgeräusche, eventuell tastbarer Tumor im Pankreasbereich, eventuell Röntgenzeichen, eventuell eine Organkomplikation	Fermententgleisung, Leukozyten > 10 000/µl, Blutzucker 90–150 mg/dl, Calcium nach > 1,75 mmol/l	wie II + beginnende oder manifeste Komplikationen - Schock akute Niereninsuffizienz, Enzephalopathie pulmonale Komplikationen - gastrointestinale Blutung	Leukozytose > 15 000/µl, Linksverschiebung, Leukozyten > 12 000/µl, Blutzucker > 150 mg/dl Calcium < 1,75 mmol/l, metabolische Azidose, Gerinnungsstörungen, über 5 mmol/l, arterielle Hypoxie, Hyperkapnie Transaminasen erhöht, Serum-Harnstoff erhöht
rasche Besserung auf konservative Basistherapie	allmähliche Rückbildung	verzögertes oder kein Ansprechen auf konservative Basistherapie	verzögerte oder keine Normalisierung	weitere Verschlechterung, Manifestation obengenannter Organkomplikationen	anhaltend pathologisch und weitere Verschlechterung
		auffälliger Flüssigkeitsbedarf (> 11 24 h) zur Normalisierung von - Zentralvenendruck (> 12 cm H_2O) - Diurese (> 50 ml/h)		großer Flüssigkeitsbedarf (> 6 l/24 h) zur Normalisierung von - Zentralvenendruck (> 12 cm H_2O) - Diurese (> 50 ml/h)	Hämokonzentration > 50 %

Abbildung 3: Stadien nach Kümmerle (20)

Die intra- und extrapankreatische Nekroseausbreitung wurde nach dem Op.-befund anhand der üblichen anantomischen Einteilung festgelegt: Pankreaskopf = 50%, Pankreascorpus = 30%, Pankreasschwanz = 20%.

In Anlehnung an diese anatomische Klassifizierung erfolgte die Einteilung in vier Ausbreitungsgrade von $\leqslant 30\%$, $\leqslant 50\%$, $\leqslant 75\%$ und $\leqslant 100\%$.

Die extrapankreatischen Ausbreitungsräume wurden nach der Einteilung von Beger (1, 2) folgendermaßen festgelegt:

1. Bursa omentalis / li. Diaphragma
2. Quercolonmesenterium
3. Retroperitoneum / Colon descendens
4. Retroperitoneum / Colon ascendens
5. Flexura duodenojejunalis

Postoperativ erfolgte die Bemessung des Schweregrades nach der Häufigkeit folgender Organkomplikationen, wobei das Vorkommen mehrerer Organkomplikationen als Indikator für einen schwereren Verlauf der Erkrankung gewertet wurde:

1. Pulmonale Ateminsuffizienz; $P_aO_2 = \leqslant 60$ mm Hg
2. Arterielle Hypotension; $RR_{sys.} \leqslant 80$ mm Hg / 15 Min.
3. Niereninsuffizienz; Kreatinin i. Serum $\geqslant 1{,}4$ mg %
4. Darmparalyse
5. Peritonitis
6. Relaparotomie

3.3 Auswertungsparameter

Zur Fragestellung der Häufigkeit von Endotoxin bei akuter Pankreatitis wurden 24 Proben aus der Nekrose sowie 384 Proben aus dem venösen Blut und Ascites entnommen und qualitativ und semiquantitativ untersucht.

Die postoperative Untersuchungsphase wurde eingeteilt in
- die frühpostoperative Phase, die ersten 48 Stunden, und
- den Gesamtverlauf.

Die Endotoxinabnahmen erfolgten wegen der bekannten Tagesschwankungen in Körperflüssigkeiten und damit verbundenen falsch negativen Ergebnissen mehrmals am Tag (15, 45). Der Untersuchungszeitraum wurde als positiv gewertet, wenn mindestens ein positiver Befund in den jeweiligen Körperflüssigkeiten vorlag.

In den ersten 48 Stunden wurden pro Patient 1-10 Proben, im Durchschnitt 8 Proben, bei einer Frequenz von 4-8 Stunden abgenommen. Der Zeitraum wurde als endotoxinpositiv im Blut oder Dialysat gewertet, wenn mindestens ein positiver Befund in der jeweiligen Lösung vorlag.

Der gesamte postoperative Untersuchungszeitraum betrug im Durchschnitt 5 Tage (1-13 Tage). Es wurden insgesamt 384 Proben aus dem venösen Blut und Ascites in regelmäßigen Abständen entnommen. Der Tag galt als endotoxinpositiv im Blut oder Dialysat, wenn mindestens ein positiver Befund in der jeweiligen Substanz vorlag.

Die Bakteriologie wurde aus dem Nekrosematerial und zweimal in Abständen aus dem Ascites frühpostoperativ entnommen.

Die Kriterien der Pankreatitisbewertung wurden in Abschnitt 3.2 beschrieben.

Ausgehend von der Hypothese, daß Endotoxin den Krankheitsverlauf der nekrotisierenden Pankreatitis in typischem Sinne negativ beeinflußt, wurden folgende Parameter mit dem Endotoxinbefund korreliert und auf Signifikanz untersucht:

1. Nekrosegröße
2. mehrere schwerwiegende Organkomplikationen im Verlauf
3. Leukozyten, Thrombozyten, Kreatinin und Temperatur als Parameter, die unter Endotoxinwirkung spezifische Veränderungen durchlaufen.

Zur Abschätzung der prognostischen Bedeutung eines positiven Endotoxinbefundes in der frühpostoperativen Phase wurden die Endotoxinbefunde in den ersten 48 Stunden in Beziehung zum Auftreten von multiplen Komplikationen sowie Letalität im gesamten postoperativen Verlauf gesetzt.

3.4 Statistik

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte deskriptiv durch absolute und relative Häufigkeiten, Mittelwert, häufigster Wert sowie Spannweite.

Die Berechnung statistischer Kennwerte wurde über EDV mittels des Programmpaketes SPSS (79, 80) am Rechenzentrum der FU Berlin vorgenommen.

Zur Berechnung der Signifikanz zweier Mittelwerte (Thrombozyten, Leukozyten, Kreatinin und Temperatur) wurde der nichtparametrische Kolmogorov-Smirnov-Test eingesetzt (79, 80).

Die Prüfung des Zusammenhanges zwischen den Variablen Endotoxin und Komplikationen bzw. Letalität im postoperativen Verlauf erfolgte über den Chi^2-Test, bzw. Fischers-Exact-Test bei einer Zellbesetzung kleiner 10. Aufgrund der kleinen Fallzahl wurde die Signifikanz der Variablen Endotoxin im venösen Blut oder Ascites versus Komplikationen bzw. Letalität über die Korrelationskoeffizienten nach Spearmann als einseitiger Signifikanztest berechnet. Da sich im Beobachtungszeitraum zeigte, daß Patienten mit "einer Organfunktionsstörung" den Verläufen mit "keinen Komplikationen" zuzuordnen waren und Endotoxin typischerweise gleichzeitig mehrere Organsysteme schädigt, wurden bei den Signifikanzberechnungen die entsprechenden Gruppen auch wegen der kleinen Fallzahl zusammengefaßt (79, 80).

4. PATIENTENGUT

In die Untersuchung wurden 24 Patienten aufgenommen, die unter dem klinischen Bild einer akuten Pankreatitis operativ behandelt wurden und einen nekrotisierenden bzw. hämorrhagisch nekrotisierenden Verlauf zeigten.

Bei 17 von 24 Patienten wurde intra- und postoperativ Endotoxin im pankreatischen Nekrosegebiet oder Ascites, im venösen Blut und in der Bauchhöhlenspülflüssigkeit qualitativ und halbquantitativ bestimmt (Gruppe Ia), bei weiteren 7 Patienten wurde Endotoxin nur intraoperativ untersucht (Gruppe Ib).[2)]

Von den Patienten waren 8 weiblich und 16 männlich. Das Alter lag zwischen 24 und 84 Jahren; die Männer waren zwischen 24 und 50 Jahre alt, was einem Durchschnitt von 36,2 Jahren entspricht; die Frauen hatten ein Alter zwischen 30 und 84 Jahren, im Durchschnitt demnach 67,7 Jahre (siehe Tab.1).[3)]

---

2) Die Unterteilung der Patienten in Gruppe Ia und Ib wurde nur für den Teil der Arbeit vorgenommen, der die intraoperativen Nekrosebefunde betrifft, da für 7 der Patienten (Gruppe Ib) lediglich intraoperative Endotoxinbefunde vorhanden waren.

3) Zur besseren Übersichtlichkeit ist die genaue Aufschlüsselung der Patienten jeweils in Tabellen erfaßt und im Text nur die Gesamtzahl genannt.

Tabelle 1: Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten mit akuter Pankreatitis

1. Gesamtgruppe (n=24)

		Alter				
	n	min	max	Median	$\bar{x}$	SD
männlich	16	24	50	35	36,2	± 7,6
weiblich	8	30	84	74	67,7	± 16,9
Gesamt	24	24	84	39	47,8	+ 19,1

2. Gruppe Ia (n=17)

		Alter				
	n	min	max	Median	$\bar{x}$	SD
männlich	11	24	46	34	35,4	± 6,0
weiblich	6	30	84	71,5	71,7	± 9,8
Gesamt	17	24	84	42	45,9	+ 17,2

3. Gruppe Ib (n=7)

		Alter				
	n	min	max	Median	$\bar{x}$	SD
männlich	5	26	50	37	38,8	± 9,4
weiblich	2	30	77	53,5	53,5	± 23,5
Gesamt	7	30	77	32	43	+ 16,2

Ätiologisch stand die alkoholtoxisch bedingte Pankreatitis im Vordergrund. Bei 67% der Patienten (16 Männer) ließ sich eine Alkoholbelastung, bei 25% der Patienten

(6 Frauen) eine Cholithiasis als Grunderkrankung nachweisen, bei weiteren 8% der Patienten (2 Frauen) blieb die Ursache der Erkrankung unbekannt (siehe Tab.2).

Tabelle 2: Ätiologie der akuten Pankreatitis

	n	biliär	alkoholtoxisch	idiopathisch
Gruppe Ia	17	5 (29%)	11 (65%)	1 (5%)
Gruppe Ib	7	1 (14%)	5 (72%)	1 (14%)
Gesamt	24	6 (25%)	16 (67%)	2 (8%)

Patientendatei

Pat.	Alt.	m/w	Kummerle Stadium	Op-Indikation	Op-Befund	primäre Therapie	Let.
1	40	m	II-III	akutes Abdomen	Total-nekrose	N, Ch, KPS, LS	+
2	24	m	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Total-nekrose	N, KPS, LS	+
3	66	w	III	Schock	Total-nekrose	N, Ch, KPS, LS	+
4	82	w	III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Halb-nekrose	PL, KPS, LS	+
5	84	w	II-III	akutes Abdomen	Subtotale N. Sigma-nekrose	N, Ch, AP, KPS, LS	+
6	55	w	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Halbnekrose lineale u. subphren. Absz.	R, Sp, KPS, LS, Abszeß-entfern.	+
7	73	w	II	V.a. Nekrose Cholelithiasis	Halbnekrose	Ch, LS	-
8	34	m	II	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Drittelne-krose, retropankr. Nekrose	PL, N, KPS, LS	-
9	41	m	I-II	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Drittelne-krose, extrapank. Absz., Z.n. Duodenopan-kreat-ektomie	PL, LS	-
10	70	w	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Halbnekrose	N, KPS, LS	-
11	31	m	I-II	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Total-nekrose	N, LS, KPS	-
12	42	m	II	akutes Abdomen	Drittelne-krose, retrocol. N.	PL, D, KPS	-
13	35	m	I-II	V.a. Abszeß	Total-nekrose	PL, N, LS, KPS	-
14	46	m	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Halbnekrose extrapank. Nekrose	PL, N, LS, KPS	-
15	30	m	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Halb-nekrose	N, D, LS, KPS	-
16	34	m	I-II	Pankreas-nekrose	Halb-nekrose	KPS, LS	-
17	32	m	II-III	akutes Abdomen	Halb-nekrose	N, LS, KPS	-
18	30	w	I	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Drittel-nekrose	KPS, LS	-
19	37	m	I-II	PL zum Aus-schluß eines Malignoms	Halb-nekrose	R, LS, D	-
20	77	w	I-II	Abzedierung	Halbne-krose re-trocolisch u. -pan-kreatisch	N, D	-
21	32	m	II-III	V.a. Nekrotis. b. behand. a.P.	Drittel-nekrose	PL, KPS	-
22	50	m	III	akutes Abdomen	Halbne-krose, Milzruptur, Milzvenen-thrombose	PL, D, KPS Splenektomie	+
23	49	m	III	septischer Schock	subtotale Nekrose	PL, LS, KPS	+
24	26	m	III	GI-Blutung Nekrose	subtotale Nekrose	PL, D, KPS	+

Ch = Cholecystektomie, D = Drainage, KPS = kontinuierliche Peritonealspulung, LS = Lokalspulung, N = Nekrotektomie, PL = Probelaparotomie, R = Resektion

5. THERAPIE UND VERLAUF

5.1 Operative Therapie

Die operative Therapie, bezogen auf das Pankreas, bestand in 59% der Fälle (14 Patienten) in einer Nekrotektomie, in 8% (2 Patienten) in einer Resektion, bei 38% (8 Patienten) wurde eine Probelaparotomie vorgenommen.

Als zusätzliche Maßnahme wurde in vier Fällen eine Cholecystektomie, zweimal eine Splenektomie und einmal eine Sigmateilresektion durchgeführt.

Bei fast allen Patienten erfolgte eine kontinuierliche Spültherapie sowohl der Nekrosehöhle als auch des Abdomens.

5.2 Postoperative Therapie und Verlauf

Bei 19 Patienten (79%) wurde über intraoperativ gelegte Tenckhoffkatheter eine Peritonealdialyse mit hyperosmolarer Dialyselösung "GIK"[4] zur Eliminierung des Endotoxins aus dem Abdomen durchgeführt. Die Spülmenge betrug frühpostoperativ zwischen 4 und 48 Liter, durchschnittlich 19 Liter, mit kontinuierlicher Verminderung bei Besserung des Krankheitsverlaufes. Die Spüldauer lag zwischen 1 und 22 Tagen. Bei 20 Patienten erfolgte eine lokale Spül-Saug-Drainage des Operationsgebietes.

---

4) Zusammensetzung der GIK-Lösung: 5,67 g/l NaCl, 3,92 g/l Na-Lactat, 0,30 g/l KCl, 0,26 g/l CaCl, 0,15 g/l $MgCl_2$, 16,5 g/l Glukose, Osmolarität: 363 mosmol/l.

Bei der bakteriologischen Untersuchung wurde als häufigster Keim E.coli festgestellt. Entsprechend dem Antibiogramm wurden die Patienten gezielt antibiotisch behandelt. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Postoperativ wurden alle Patienten intensivmedizinisch behandelt, d.h. es erfolgte eine regelmäßige Kontrolle von Herz und Kreislauf sowie der Atmungs- und Nierenfunktion in Verbindung mit kontinuierlichen Laboruntersuchungen. Alle Patienten wurden in üblicher Weise parenteral ernährt.

Bei 10 Patienten war der postoperative Verlauf komplikationslos. Eine pulmonale Ateminsuffizienz ($P_aCO_2 \geqslant 60$ mmHg, $P_aO_2 \leqslant 60$ mmHg) trat bei 12 Patienten (50%) auf, sodaß zwei Patienten frühpostoperativ kurzfristig, neun Patienten langfristig (länger als drei Tage) beatmet und ein Patient reintubiert werden mußte.

Eine sekundäre Niereninsuffizienz (Kreatinin $\geqslant$ 1,4 mg%) entwickelte sich bei neun Patienten, die in fünf Fällen gleichzeitig mit der Endotoxineliminierung durch Peritonealspülung therapiert wurden.

Eine Kreislaufinsuffizienz (RR syst. $\leqslant$ 80 mmHg über mindestens 15 Minuten) zeigte sich bei sechs Patienten, therapeutisch wurde Dopamin und Arterenol angewendet.

Ileus und Peritonitis wurde bei je sechs Patienten festgestellt. Bei fünf Patienten war aufgrund des fortschreitenden nekrotisierenden Prozesses eine Relaparotomie notwendig (siehe Tab.4).

Tabelle 3: Endotoxin- und Keimnachweis intra- und frühpostoperativ (Einzelbefunde)

Pat.	intraop. Nekrose/ Ascites	i.venös. Blut	i.d.abdom. Spülflüssigkeit	Keime im Peritoneum/ Pankreasnekrose
1	+	+	+	E.coli, Enterok., Klebsiella
2	+	+	+	Klebsiella
3	+	+	+	kein Wachstum
4	+	+	+	kein Wachstum
5	+	+	+	Enterokokken
6	-	+	+	E.coli
7	+	+	+	E.coli
8	+	+	-	kein Wachstum
9	+	+	+	E.coli, Enterokokken
10	-	+	-	kein Wachstum
11	+	-	-	kein Wachstum
12	+	-	+	kein Wachstum
13	+	-	-	E.coli, Enterokokken
14	+	+	+	E.Coli, Citrobacter freundii, Achromato- u. Acinetobacter
15	+	-	-	kein Wachstum
16	-	-	+	kein Wachstum
17	+	+	+	E.coli
18	-			kein Wachstum
19	+			kein Wachstum
20	+			E.coli
21	+			E.coli
22	+			E.coli, Enterokokken
23	-			E.coli
24	+			E.coli

Tabelle 4: Komplikationen während des postoperativen Beobachtungszeitraumes bei Patienten mit akuter nekrotisierender Pankreatitis

Pat.	Alter Jahre	Krankenhaus-tage	Pulmonale Insuff. a)	Renale Insuff. b)	Kreisl. Insuff. c)	Perito-nitis	Relap.	Ileus	Leta-lität
1	40	13	+	+	+	+	-	+	+
2	24	25	+	+	+	+	+	+	+
3	66	30	+	+	+	-	-	+	+
4	82	3	+	+	+	-	-	+	+
5	84	2	+	+	+	+	-	-	+
6	55	19	+	+	+	+	-	+	+
7	73	48	-	-	-	-	-	-	-
8	34	48	-	-	-	-	-	-	-
9	41	11	-	-	-	-	-	-	-
10	70	30	-	-	-	-	+	-	-
11	31	48	-	-	-	-	-	-	-
12	42	52	-	-	+	-	-	-	-
13	35	92	-	-	-	-	-	-	-
14	46	103	+	-	-	-	+	-	-
15	30	18	-	-	-	-	-	-	-
16	34	45	-	-	-	-	-	-	-
17	32	83	+	-	-	-	-	-	-
18	30	131	-	-	-	-	-	-	-
19	37	62	-	-	-	-	-	-	-
20	77	88	+	+	-	-	+	-	-
21	32	91	+	-	+	-	+	-	-
22	50	6	+	+	+	+	-	+	+
23	49	4	+	+	+	-	-	-	+
24	26	15	+	-	+	+	-	-	+
Anzahl der Komplikationen			13 (54%)	9 (37%)	11 (46%)	6 (25%)	5 (21%)	6 (25%)	9 (38%)

a) $P_aO_2 \leq 60$ mmHg b) Krea i.S. $\geq 1{,}4$ mg% c) $P_{a\ sys} \leq 80$ mmHg / 15 Minuten

5.3 Letalität

Die Letalität betrug 37,5% (9 Patienten). Davon hatten die fünf männlichen Verstorbenen eine Alkoholanamnese, die vier weiblichen Verstorbenen eine Gallensteinerkrankung. Der Altersdurchschnitt betrug 37,8 Jahre bei den Männern und 71,7 Jahre bei den Frauen.

Tabelle 5: Letalität der Patienten nach Alter und Geschlecht

	m / Alter		w / Alter	
Gruppe Ia	2	32,0 ± 8	4	77,3 ± 8
Gruppe Ib	3	41,6 ± 11	0	
Gesamt	5		4	

Von den neun verstorbenen Patienten hatten drei eine Partial- und sechs eine Subtotal- bzw. Totalnekrose. Dies entsprach einer Mortalität von 19% bei der Partial- und 75% bei der Subtotal-/Totalnekrose (siehe Tab.6).

Tabelle 6: Klinischer Schweregrad der Pankreatitis der später Verstorbenen nach Kümmerle (19)

Stadium	II-III	III
Gruppe Ia	4	2
Gruppe Ib		3
Gesamt	4	5

Die Todesursache war in der überwiegenden Zahl der Fälle toxischer Schock (siehe Tab.7).

Tabelle 7: Sektionsbefund der 9 verstorbenen Patienten

Patient	Sektionsbefund
1	keine Sektion erfolgt
2	septisch-toxisches Herz-Kreislaufversagen
3	toxischer Schock
4	toxischer Schock mit Gerinnungsstörung und Lungenembolie
5	septischer Schock
6	toxisches Herz-Kreislaufversagen
22	protrahiertes Rechtsherzversagen
23	protrahierter Schock mit Herz-Kreislaufversagen
24	protrahierter Schock

6. ERGEBNISSE

6.1 Pankreatitisstatus

6.1.1 Klinische Stadien

Die Einteilung des Schweregrades der Pankreatitis erfolgte nach Kriterien von Kümmerle und Mitarbeitern (19, 20). Danach ließen sich 4% (1) der Patienten dem Stadium I, 25% (6) dem Stadium I-II, 17% (4) dem Stadium II, 33% (8) dem Stadium II-III und 21% (5) dem Stadium III zuordnen, wobei bei weiteren Verlaufsbeobachtungen Patienten des Zwischenstadiums I-II zu II und Patienten des Zwischenstadiums II-III je zur Hälfte zu II und zu III tendierten (siehe Tab.8).

Tabelle 8: Einteilung der Pankreatitispatienten nach klinischen Schweregraden zum Zeitpunkt der Operationsentscheidung nach (19, 20)

Stadium	I	I-II	II	II-III	III	Gesamt
Gruppe Ia	0	4 (24%)	4 (23%)	7 (41%)	2 (12%)	17 (100%)
Gruppe Ib	1 (14%)	2 (29%)	0	1 (14%)	3 (43%)	7 (100%)
Gesamt	1 (4%)	6 (25%)	4 (17%)	8 (33%)	5 (21%)	24 (100%)

Der Zeitraum vom klinischen Beginn des akuten Schubs der Pankreatitis bis zur Operation betrug 0-50 Tage, im Durchschnitt 13 Tage.

6.1.2 Ausmaß der Nekrosen

Nach dem intraoperativen Befund zeigten 67% (n=16) eine Partial- und 33% (n=8) eine Subtotal- oder Totalnekrose (siehe Tab.9).

Tabelle 9: Ausmaß der Nekrosen

Nekrose %	30	50	Subtotal	Total	Gesamt
Gruppe Ia	3 (18%)	8 (47%)	1 (6%)	5 (29%)	17 (100%)
Gruppe Ib	2 (29%)	3 (43%)	2 (28%)	0	7 (100%)
Gesamt	5 (21%)	11 (46%)	3 (12%)	5 (21%)	24 (100%)

16 von 24 Patienten wiesen eine extrapankreatische Ausbreitung des Krankheitsprozesses mit überwiegender Beteiligung der Bursa omentalis, li. Diaphragma sowie Quercolonmesenterium auf (siehe Tab.10).

Eine retroperitoneale Beteiligung zeigte sich bei 100% der Subtotal- und Totalnekrosen und bei 50% der Partialnekrosen.

Tabelle 10: Retroperitoneale Ausbreitungsräume bei nekrotisierender Pankreatitis

	Gruppe Ia	Gruppe Ib	Gesamt
Bursa omentalis/li. Diaphragma	4	2	6
Quercolonmesenterium	5	0	5
Retroperitoneum/Colon desc.	2	0	2
Retroperitoneum/Colon ascen.	0	0	0
Flexura duodenojejunalis	2	1	3
negativer Befund	4	4	8
Gesamt	17	7	24

6.1.3 Komplikationen

15 (62%) von 24 der Patienten hatten durch die nekrotisierende Pankreatitis ausgelöste Organkomplikationen im postoperativen Verlauf. Nach einzelnen Komplikationen aufgeschlüsselt ergaben sich folgende Befunde:

Tabelle 11: Häufigkeit von Organkomplikationen im postoperativen Verlauf

Patienten	Pulm. a)	Ren. b)	Kreisl. c)	Perit.	Relap.	Ileus
Gruppe Ia	7	5	7	4	3	4
Gruppe Ib	5	3	4	2	2	1
Gesamt	12	8	11	6	5	5

a) $P_aO_2 \leq 60$ mmHg; b) Krea. i.S. $\geq 1{,}4$ mg%;
c) $P_a$sys ≤ 80 mmHg/15 Min

Tabelle 11a: Komplikationen während des postoperativen Beobachtungszeitraums bei Patienten mit akut-nekrotisierender Pankreatitis und Endotoxinbefunde

Patient	Pulonale Insuff. a)	Renale Insuff. b)	Kreislauf-Insuff. c)	Peritonitis	Relap.	Ileus	Letal.	Endotoxinbefund Blut	Endotoxinbefund Spülflüss.
1	+	+	+	+	–	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	–	–	+	+	+	+
4	+	+	+	–	–	+	+	+	+
5	+	+	+	+	–	–	+	+	+
6	+	+	+	+	–	+	+	+	+
7	–	–	–	–	–	–	–	+	+
8	–	–	–	–	–	–	–	+	–
9	–	–	–	–	–	–	–	+	+
10	–	–	–	–	+	–	–	+	–
11	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	+	–	–	–	–	–	+
13	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14	+	–	–	–	+	–	–	+	+
15	–	–	–	–	–	–	–	–	–
16	–	–	–	–	–	–	–	–	+
17	+	–	–	–	–	–	–	+	+
Gesamt	8 (47%9	6 (35%)	7 (41%)	4 (24%)	3 (17%)	5 (29%)	6 (35%)	12 (71%)	12 (71%)

a) $P_aO_2 \leq 60$ mmHg; b) Krea. i.S. $\geq 1,4$ mg%; c) $P_a$sys ≤ 80 mmHg/15 Min

Wie auch bei anderen Untersuchungen traten hier als häufigste Komplikationen pulmonale Insuffizienz und Kreislaufversagen infolge Schocks sowie akutes Nierenversagen auf (3).

Bei 71% der Patienten zeigten sich postoperativ laborchemische Veränderungen. Wie die Tabelle 12 zeigt, war das hämatologische System mit Leukozytose und Thrombozytopenie am häufigsten betroffen:

Tabelle 12: Häufigkeit von pathologischen, laborchemischen Befunden

Patienten	Leukozyten ≤10.000 pro mm^3	Thrombozyten ≤120.000 pro mm^3	Kreat i.S. ≥1,4 mg/dl	Temp. ≥38^5 Trec
Gruppe Ia	12	10	9	9
Gruppe Ib	6	10	5	6
Gesamt	18	15	14	15

6.2 Ergebnisse der Untersuchung auf Endotoxin

In diesem Abschnitt erfolgt die Darstellung der Ergebnisse der Untersuchung auf Endotoxin in der Nekrose, dem Ascites und dem venösen Blut.

6.2.1 Endotoxinbefund in der Nekrose und/oder dem pankreatischen Ascites

Bei allen Patienten wurden Endotoxinproben aus der Pankreasnekrose und dem pankreatischen Ascites intra-

operativ entnommen und die Konzentration bestimmt. Der höchste Wert betrug 100 ug/ml, der häufigste positive Wert war 0,1 ng/ml.

Tabelle 13: Endotoxin-Nachweis

Patient	intraop. Nekrose/ Ascites	intraop. Konzentration ng/ml
1	+	10
2	+	10
3	+	10
4	+	0,1
5	+	10
6	-	0
7	+	100*
8	+	0,1
9	+	10
10	-	0
11	+	0,1
12	+	1
13	+	1000
14	+	100
15	+	100
16	-	0
17	+	0,1
18	-	0
19	+	0,1
20	+	1
21	+	0,1
22	+	100
23	-	0
24	+	1
positive Befunde	19	19

* ug/ml

Von den 24 Patienten hatten 80% Endotoxin in der Nekrose und/oder dem Ascites bei der intraoperativen Abnahme. Bezogen auf die Nekrosegröße hatten 77% (14 Patienten) mit Partialnekrose und 83% (5 Patienten) mit Subtotal- oder Totalnekrose einen positiven Befund. Bemerkenswert war, daß bereits 4 (80%) von 5 Patienten mit einer Nekrose bis 30% positive Endotoxinwerte hatten (siehe Tab.14).

Tabelle 14: Vergleich von Nekrosegröße und Endotoxinbefund

Endotxin-befund	Nekrosegröße in % 30%	50%	Subtotal	100%	Gesamt
positiv	4 (80%)	8 (75%)	2 (67%)	5 (100%)	19 (80%)
negativ	1 (20%)	3 (25%)	1 (23%)	0 (0%)	5 (20%)
Gesamt	5	11	3	5	24

6.2.2 Endotoxinbefunde im gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum

Im postoperativen Untersuchungszeitraum von durchschnittlich 5 Tagen wurden 384 Endotoxinproben, davon 193 aus dem venösen Blut und 191 aus dem Ascites, entnommen, wovon 94 Proben (24%) positiv waren. Die quantitativen Befunde hatten eine Spannweite von 0,1 ng/ml - 100 ug/ml. Bezogen auf durchschnittlich 5 Untersuchungstage, waren bei mindestens einem positiven Befund pro Tag/Patient 29% der Tage endotoxinpositiv.

6.2.2.1 Endotoxinnachweis in der frühpostoperativen Phase

In den ersten 48 Stunden postoperativ wurden bei den 17 untersuchten Patienten 120 Proben aus dem venösen Blut und 115 Proben aus dem Ascites zur Endotoxinbestimmung

Tabelle 15: Endotoxinbefund in den ersten 48 Stunden postoperativ, maximale Konzentration, positive Abnahme/Gesamtabnahmen im venösen Blut und Ascites

Patient	max. Konz. ven. Blut ng/ml	positive Abnahme/Gesamtabnahme i. ven. Blut absolut	%	i. Ascites absolut	%
1	10	4/10	40	3/10	30
2	100	2/8	25	1/8	12
3	1	1/9	11	1/8	13
4	1	1/8	12	1/8	12
5	10	6/6	100	6/6	100
6	0	0/9	-		-
7	100	3/6	50	1/6	17
8	0,1	1/9	11	0/9	-
9	0,1	1/9	11	3/7	43
10	100	1/9	11	1/10	10
11	0	0/2	-	0/2	-
12	0	0/9	-	4/9	44
13	0	0/3	-	0/3	-
14	0	0/10	-	1/9	11
15	0	0/1	-	0/1	-
16	0	0/1	-	0/8	-
17	0	0/11	-	1/11	9
Gesamt	9/17	20/120	17%	23/115	20%

entnommen, bei einer durchschnittlichen Abnahmehäufigkeit von 7 Proben pro Patient. Von den insgesamt 235 Proben waren 17% bzw. 20% endotoxinpositiv, d.h. zwischen venösem Blut und Ascites ergaben sich nahezu gleiche Häufigkeiten.

Die maximale Konzentration im venösen Blut und Ascites betrug 100 ng/ml, der häufigste positive Wert war 100 ng/ml.

Frühpostoperativ ergab sich ein positiver Endotoxinnachweis gleichzeitig im venösen Blut und Ascites bei 8 Patienten (47%). Positive Befunde zeigten 9 Patienten (53%) im Blut bzw. 12 Patienten (70%) im Dialysat (siehe Tabelle 16).

Tabelle 16: Endotoxinbefunde in den ersten 48 Stunden postoperativ und Vorkommen in Körperflüssigkeiten

Endotoxinergebnisse	Abnahmemodus nach Körperflüssigkeiten/Pat. ven. Blut	Ascites	ven. Blut u. Ascites
positiv	9 (53%)	12 (70%)	8 (47%)
negativ	8 (47%)	5 (30%)	9 (53%)
Gesamt	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)

6.2.2.2 Endotoxinbefunde im gesamten Untersuchungszeitraum

In der postoperativen Untersuchungsphase wurde bei den 17 Patienten an durchschnittlich 5 Tagen 384 Endotoxinproben (193 aus dem venösen Blut und 191 aus dem Asci-

tes) abgenommen. Das entspricht einer Abnahmehäufigkeit von 4-5 Proben pro Patient und Tag. Bei mindestens einem positiven Endotoxinbefund pro Tag und Patient waren im venösen Blut 29% und im Ascites 40% der Tage positiv.

Die Endotoxinkonzentrationen im venösen Blut sowie im Dialysat der 17 Patienten erstreckte sich von 0-100 ug bzw. von 0-1 mg. Der häufigste Wert im venösen Blut war 1 ng/ml. In der Spülflüssigkeit betrug der häufigste Wert 10 ng/ml (siehe Tab.18).

Von den untersuchten 17 Patienten hatten 12 (70%) im venösen Blut oder im Ascites einen positiven Endotoxinnachweis. Gleichzeitig in beiden Körperflüssigkeiten wiesen 10 Patienten positive und 3 Patienten negative Befunde auf (Tab.17 und 18). Die Ergebnisse werden im weiteren mit dem Verlauf der Pankreatitis verglichen.

Tabelle 17: Endotoxinbefunde im gesamten Untersuchungszeitraum nach Vorkommen in Körperflüssigkeiten

Endotoxinergebnisse	Abnahmemodus nach Körperflüssigkeiten/Pat. ven. Blut	Ascites	ven. Blut u. Ascites
positiv	12 (71%)	12 (71%)	10 (59%)
negativ	5 (29%)	5 (29%)	7 (41%)
Gesamt	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)

Tabelle 18: Endotoxinnachweis im gesamten Untersuchungszeitraum, max. Konzentration von Endotoxin im Blut und in der abdominellen Spülflüssigkeit sowie Endotoxin pos. Tage/ Gesamtabnahmetage im Untersuchungszeitraum

Patient	max. ven. Blut ng/ml	Endotox.-Konz. Spülflüssigk. ng/ml	pos. Tage / Gesamttage ven. Blut absolut	%	Spülflüssigk. absolut	%
1	100*	100*	6/11	54	10/11	91
2	100	0,1	4/8	50	1/4	25
3	1	10	1/7	14	1/4	25
4	1	1	3/5	60	2/5	40
5	10	10	3/3	100	3/3	100
6	0,1	1**	1/13	7	2/13	15
7	100	0,1	2/3	66	1/3	33
8	0,1	0	1/3	33	0/3	0
9	0,1	0,1	1/2	50	1/2	50
10	100	0	1/4	25	0/4	0
11	0	0	0/4	0	0/4	0
12	0	1	0/5	0	5/3	60
13	0	0	0/3	0	0/3	0
14	1	10	2/6	33	2/6	33
15	0	0	0/1	0	0/1	0
16	0	1	0/4	0	1/4	25
17	0,1	1	1/7	14	3/7	42
pos. Tage/ Gesamttage			26/89	29%	32/80	40%

*) ug

**) mg

6.3 Endotoxinbefund und Keimnachweis in der Pankreasnekrose und dem Ascites intraoperativ

Bei 12 von 19 (63%) der Patienten mit positivem LPS-Nachweis konnten in der Nekrose und im Ascites Bakterien nachgewiesen werden. 3 von 4 Patienten mit negativem LPS-Befund hatten keinen Erreger.

Die Keimverteilung bei 24 Fällen zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle 19: Intraoperative Endotoxinbefunde und Keimnachweise

Bakterien	Endotoxinbefund intraoperativ Nekrose/Ascites positiv	negativ
gramnegative Keime	12 (63%)	1 (25%)
kein Wachstum	7 (37%)	3 (75%)
Gesamt	19 (100%)	4 (100%)

Wie erwartet wurden am häufigsten gramnegative Keime, insbesondere E.coli gefunden. Die Einzelbefunde pro Patient sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

6.3.1 Endotoxinbefund im postoperativen Verlauf und Organkomplikationen

Die Analyse des Zusammenhangs zwischen Endotoxinbefund und postoperativem Verlauf erbrachte die folgenden Ergebnisse. Von 12 Patienten mit positivem Endotoxin-

nachweis im Blut bzw. Ascites hatten 7 (58%) multiple Organkomplikationen (pulmonale, renale, kardiovaskuläre Insuffizienz sowie abdominelle Erkrankungen). Von den 5 Patienten mit negativem Nachweis hatte dagegen nur ein Patient eine Komplikation. Die Berechnung des Chi^2-Testes mit den Kategorien "multiple Komplikationen" versus "eine/keine Komplikation" und positiven bzw. negativen Endotoxinbefunden ergab einen Fischers-Exact-Wert von p=0,08. Die Endotoxinwerte im Blut und Ascites korrelierten signifikant mit der Schwere der Erkrankung, nach den Spearmannschen Korrelationskoeffizienten auf einem Niveau von r=0,65, p=0.03.

Tabelle 20: Verhältnis von Endotoxinbefunden und Auftreten von Organkomplikationen im postoperativen Verlauf

Komplikationen im postoperativen Verlauf / Patient		Endotoxinergebnisse i. ven. Blut pos.	neg.	i. Ascites pos.	neg.	i. ven. Blut u. Ascites pos.	neg.
keine	7	3	4	3	4	2	5
eine	3	2	1	2	1	1	2
mehrere	7	7	0	7	0	7	0
Gesamt	17	12	5	12	5	10	7

6.3.2 Nachweis von Endotoxin im venösen Blut im postoperativen Verlauf und Beziehung zu Organkomplikationen

In diesem Kapitel soll die Dauer der Endotoxinämie als Maß der peripher-venösen Ausbreitung des Endotoxins und die Häufigkeit von Organkomplikationen, wie Schädigun-

gen der Lunge, der Nieren usw., anhand von 12 Patienten mit Endotoxin im venösen Blut und 5 Patienten ohne Endotoxinämie untersucht werden.

Die 12 Patienten mit Endotoxinämie hatten maximal 6 Tage und minimal 1 Tag, im Durchschnitt an 2,3 Tagen Endotoxin im Blut. Beim Vergleich der Dauer der Endotoxinämie mit dem Auftreten von Komplikationen ergab sich folgendes Bild:

Tabelle 21: Dauer der Endotoxinämie in Tagen im Verhältnis zur Schwere der Erkrankung

Endotoxin im ven. Blut in Tagen	Patienten Anzahl	Auftreten von Organkomplikationen/Patient keine	eine	mehrere
0 Tage	5	4	1	0
weniger als 2,3 Tage	6	2	2	2
mehr als 2,3 Tage	6	1	0	5
Gesamt	17	7	3	7

Bei der Betrachtung der Dauer der Endotoxinämie und der Schwere der Erkrankung wird eine Polarisierung deutlich bei den Variablen "mehrere Komplikationen" versus "positive Endotoxinbefunde über 50% der Untersuchungstage" und "keine Komplikationen" versus "negative Endotoxinbefunde". (Einzelbefunde siehe Tab.11a, zusammenfassende Befunde siehe Tab.22).

6.4 Endotoxin und ausgewählte laborchemische Parameter

Zusätzlich zu den Endotoxinabnahmen erfolgte bei allen Patienten einmal pro Tag eine gleichzeitige Abnahme von venösem Blut zur Bestimmung von Leukozyten, Thrombozyten und Kreatinin, um die endotoxinspezifischen Veränderungen festzustellen. Außerdem wurde zu demselben Zwecke die Temperatur gemessen.

Wie in Untersuchungen (55, 57, 60, 71) nachgewiesen, verursacht Endotoxin nach kurzer Leukozytopenie eine Leukozytose, eine Thrombozytopenie, einen Kreatininanstieg sowie eine Temperaturerhöhung. Bei Patienten sind diese typischen Veränderungen der Werte aufgrund multipler therapeutischer Maßnahmen wie Antibiotika, Bluttransfusion usw. erwartungsgemäß nur tendenziell zu erfassen.

Die aus den maximalen Einzelwerten gebildeten Mittelwerte bei Patienten mit unterschiedlichem Endotoxinbefund stellen sich so dar:

Tabelle 22: Klinische Parameter und Endotoxinergebnisse im gesamten Untersuchungszeitraum

Mittelwerte klinischer Parameter	Endotoxinergebnisse Blut		Ascites		Blut/Ascites	
	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
Leukozyten	18.400	10.500	17.300	13.000	19.100	11.600
Thrombozyten	105.400	125.600	97.600	144.000	86.100	158.000
Kreatinin	2,8	1,12	2,8	1,2	3,1	1,17
Temperatur rektal	39^{0}	38^{6}	38^{9}	38^{9}	39^{8}	39

Beim Vergleich der Einzel- und Mittelwerte der Patienten mit Endotoxin im Blut und Dialysat mit den Patienten ohne bzw. isoliertem Endotoxinbefund zeigten sich Unterschiede im Sinne eines deutlichen Endotoxineinflusses. Bei der Überprüfung auf Signifikanz der Mittelwerte läßt sich jedoch zwischen beiden Gruppen statistisch kein eindeutiger Unterschied ($p => 0,1$; siehe Tab.23 und 24) feststellen.

6.5 Endotoxinnachweis und Letalität

6.5.1 Endotoxinbefund in der Pankreasnekrose und Letalität

In diesem Abschnitt soll die Beziehung zwischen dem Auftreten von Endotoxin in der Nekrose, im Blut und/oder Ascites und postoperativer Letalität untersucht werden.

Tabelle 23: Endotoxinbefund in der Nekrose und Letalität

Endotoxinbefund in der Nekrose	verstorben	überlebt	Pat.
positiv	7 (37%)	12 (63%)	19
negativ	2 (40%)	3 (60%)	5
Gesamt	9	15	24

Es wurden bei 19 von 24 Patienten Endotoxin in der Pankreasnekrose nachgewiesen. Fünf Patienten hatten einen negativen Befund. Die Sterblichkeit war bei beiden Gruppen gleich hoch. Es ergab sich somit keine Korrelation zwischen dem Auftreten von Endotoxin allein in der Nekrose und der postoperativen Letalität.

6.5.2 Endotoxinbefund im postoperativen Zeitraum und Letalität

In diesem Abschnitt soll die Beziehung zwischen dem Auftreten von Endotoxin im Blut und/oder Ascites und der postoperativen Letalität untersucht werden. Das Verhältnis zwischen dem Auftreten von Endotoxin und der Letalität zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 24: Endotoxinergebnisse und Letalitätsrisiko

Krankheitsverlauf	Endotoxinergebnisse					
	Blut		Ascites		Blut/Ascites	
	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
überlebt	6	5	6	5	4	7
verstorben	6		6		6	
Gesamt (17)	12	5	12	5	10	7

Alle im Untersuchungszeitraum verstorbenen Patienten hatten positive Endotoxinbefunde im Blut und Ascites. Umgekehrt betrug die Letalität der 12 Fälle mit positivem Nachweis im Blut und Ascites 50%. Patienten mit generell negativem Befund waren nicht verstorben. Die Überprüfung auf Signifikanz ergab einen Zusammenhang von $p=0,07$ in beiden Körperflüssigkeiten nach dem Chi^2-Test.

Der Einfluß von Endotoxin in der Pankreasnekrose, dem peripher-venösen Blut und dem Ascites auf den Verlauf der Erkrankung und Letalität soll nochmals anhand von vier Patienten verdeutlicht werden.

Tabelle 25: Endotoxinbefunde in der Nekrose und postoperativ im Blut und Ascites sowie postoperative Komplikationen am Beispiel von 4 Patienten

Pat.	Alter	Op-Befund Nekrosegröße	Endotoxin i.ven. Blut u. Ascites	Komplikationen mehrere	keine	Letalität
1	39	90%	+	+		+
2	24	100%	+	+		+
11	31	90%	-		+	-
13	37	100%	-		+	-

Alle vier Patienten hatten eine Pankreastotalnekrose mit positivem Endotoxinnachweis intraoperativ. Postoperativ zeigten die zwei später verstorbenen Patienten positive Endotoxinbefunde im venösen Blut und Ascites, die zwei überlebenden Patienten hatten negative Nachweise. Analog dazu wiesen die Patienten mit positivem Befund pulmonale und renale Komplikationen auf, die in Verbindung mit einer Herz/Kreislaufinsuffizienz zum Tode führten. Die zwei Patienten ohne positiven Endotoxinbefund postoperativ entwickelten keine Komplikationen.

6.6 Endotoxinbefunde in den ersten 48 Stunden postoperativ im venösen Blut und/oder Ascites als prognostischer Faktor für Komplikationen und Letalität

Zur Einschätzung der prognostischen Bedeutung der frühpostoperativen Endotoxinbefunde werden diese Ergebnisse im Zusammenhang mit der Häufigkeit des Auftretens von

Organkomplikationen im gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum verglichen.

Tabelle 26: Endotoxinbefunde in den ersten 48 Stunden und Organkomplikationen im Verlauf

Komplikationen im Verlauf / Patient		Endotoxinbefunde frühpostperativ ven. Blut		Ascites		ven. Blut /Ascites	
		pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
keine	7	3	4	2	5	2	5
eine	3	1	2	3		1	2
mehrere	7	5	2	6	1	5	2
Gesamt	17	9	8	11	6	8	9

Patienten mit Endotoxin im Blut (9) oder Ascites (11) wiesen 5 bzw. 6 Fällen (ca. 50%) multiple Komplikationen im postoperativen Verlauf auf, Patienten ohne Befund dagegen nur in 25% der Fälle.

Tabelle 27: Endotoxinbefunde früpostoperativ und Letalitätsrisiko

Krankheits-verlauf / Patient		Endotoxinergebnisse frühpostperativ ven. Blut		Ascites		ven. Blut /Ascites	
		pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
überlebt	11	4	7	6	5	3	8
verstorben	6	5	1	5	1	5	1
Gesamt	17	9	8	11	6	8	9

In prognostischer Hinsicht kann bei diesen Ergebnissen mit einer Steigerung der Komplikationshäufigkeit und

Letalität im postoperativen Verlauf bei initial positiven Endotoxinbefunden gerechnet werden. Statistisch ergab sich eine Signifikanz nach dem Spearmannschen Korrelationskoeffizienten von r=0,46 und p=0,03 im Blut und Blut und Ascites sowie r=0,41, p=0,05 im Ascites.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 24 bzw. 17 Patienten wurden Endotoxinbestimmungen in der Pankreasnekrose sowie im venösen Blut und Ascites intra- und postoperativ durchgeführt.

Zum zuverlässigen Nachweis von Endotoxin in eiweißhaltigen Lösungen wurde die Phenolwasserextraktionsmethode zur Isolation von LPS aus dem Plasma benutzt. Die Bestimmung des Endotoxins erfolgte mit dem Limulusamöbozytenlysattest (LAL), die halbquantitative Bestimmung wurde mittels Verdünnungsreihen durchgeführt. Als positive Ergebnisse wurden nur solche Gele gewertet, die bei Drehung um 180° ihre Form behielten. Die Empfindlichkeit der Methode lag bei 0,1 ng/ml in wässrigen und eiweißhaltigen Lösungen (nach der Phenolwasserextraktion).

Von den 24 Patienten waren 8 weiblich und 16 männlich. Der Altersdurchschnitt betrug 67,7 bzw. 36,2 Jahre. Ätiologisch standen mit 67% die alkoholtoxischen und mit 25% die billiären Ursachen im Vordergrund. Bei der Einteilung des klinischen Schweregrades der Pankreatitis nach Kümmerle und Schönborn (19, 20) waren 4% (1) der Patienten dem Stadium I, 25% (6) dem Stadium I-II, 17% (4) dem Stadium II, 33% (8) dem Stadium II-III und 21% (5) dem Stadium III präoperativ zuzuordnen.

Das intraoperativ festgestellte Pankreasnekroseausmaß betrug bei 21% (5) der Patienten bis 30%, bei 46% (11) bis 50%, bei 12% (3) war die Nekrose subtotal und bei 21% (5) total. Extraperitoneale Nekrosen fanden sich zusätzlich bei 66% (16) der Patienten. Als Regeloperation erfolgte die Nekrotektomie mit anschließender Drainage lokal und/oder im gesamten Peritoneum. Post-

operativ hatten 62% der Patienten durch die nekrotisierende Pankreatitis ausgelöste Organkomplikationen, bei 71% zeigten sich postoperativ pathologische Veranderungen bei Leukozyten, Thrombozyten und Kreatinin. Die Letalität betrug 37% im postoperativen Verlauf. Die Ursache war in der Mehrzahl toxisches Herz/Kreislaufversagen.

Die Untersuchung von 17 bzw. 24 Patienten mit nekrotisierender Pankreatitis auf Endotoxin gramnegativer Bakterien anhand des LAL-Testes und der vorgeschalteten Phenolwasserextraktion bei eiweißhaltigen Lösungen ergab folgende Befunde:

I. Endotoxin war bei 19 von 24 (80%) Patienten in der Pankreasnekrose nachweisbar. Ein positiver LPS-Nachweis bei 4 von 5 Fällen ergab sich bereits bei einer Nekrosegröße bis 30% nach intraoperativem Befund. Patienten mit Totalnekrose hatten in allen Fällen positive Befunde in der Nekrose. Gramnegative Keime fanden sich gleichzeitig bei 63% der Patienten mit Endotoxinnachweis.

II. Im gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum waren 384 Proben (193 aus dem venösen Blut und 191 aus dem Ascites) bei 17 Patienten mit nekrotisierender Pankreatitis entnommen worden, wovon 94 Proben (24%) positive Endotoxinbefunde zeigten. Der häufigste positive Wert war 1 bzw. 10 ng/ml im Blut und Ascites.
Bezogen auf die einzelnen Patienten hatten 12 von 17 (71%) im venösen Blut und/oder Ascites an durchschnittlich 2,3 (50%) Untersuchungstagen positive Endotoxinbefunde. Davon waren 10 Patienten

gleichzeitig im venösen Blut und Ascites positiv. Drei Fälle waren generell negativ.

III. In der frühpostoperativen Phase (bis 48 Stunden) wurden 120 Proben aus dem venösen Blut und 115 aus dem Ascites zur Endotoxinbestimmung entnommen. Davon waren in beiden Körperflüssigkeiten ca. 20% der Befunde positiv. Der häufigste Wert war 100 ng/ml. Aufgeschlüsselt nach den einzelnen Patienten hatten 9 (53%) im venösen Blut und 12 (70%) im Ascites Endotoxin. Acht der Patienten hatten gleichzeitig in beiden Körperflüssigkeiten positive Ergebnisse. Fünf Fälle waren generell negativ.

IV. Bei dem Vergleich der Endotoxinbefunde pro Patient mit dem Verlauf der Erkrankung zeigten sich folgende Ergebnisse: Von 12 Patienten mit positiven Befunden im Blut und Ascites (10 davon gleichzeitig in beiden Körperflüssigkeiten) hatten 7 multiple Organkomplikationen. Die 5 Patienten mit negativem LPS-Nachweis hatten keine bemerkenswerten Komplikationen. Diesen Ergebnissen entspricht eine signifikante Korrelation von $p = < 0,05$ in beiden Körperflüssigkeiten und $p = < 0,1$ jeweils im Blut oder Ascites.

Das Auftreten und die Dauer der Endotoxinämie als Maß der systemischen Ausbreitung des Prozesses wurde mit der Häufigkeit des Auftretens multipler extrapankreatischer Komplikationen im Krankheitsverlauf verglichen. Es zeigte sich eine hohe Übereinstimmung zwischen Vorkommen, der Dauer der Endotoxinämie sowie dem Krankheitsverlauf. Die 6 Patienten mit positivem LPS-Befund an mehr als 50% der Tage hatten in 5 Fällen mehrere Organkomplikationen (pulmonal, renal, kardiovaskulär und abdo-

minell), dagegen war der Krankheitsverlauf bei den 5 Patienten mit negativem LAL-Testergebnis ohne bemerkenswerte systemische Insuffizienzen. Die Zellbesetzung war für eine klassische Signifikanzberechnung zu klein.

V. Beim Vergleich der maximalen Einzel- und der Mittelwerte von Thrombozyten, Leukozyten, Kreatinin und der Temperatur auf endotoxintypische Veränderungen bei Patienten mit positivem Befund, zeigten sich bei Thrombozyten und Kreatinin deutliche Unterschiede im Sinne eines Endotoxineinflusses. Die Untersuchung war signifikant auf dem Niveau $p => 0,1$.

VI. Zur Bewertung der prognostischen Bedeutung der Endotoxinbefunde wurden die frühpostoperativen Ergebnisse der einzelnen Patienten mit dem weiteren Verlauf der Erkrankung verglichen. Es zeigte sich, daß der Endotoxinnachweis prognostische Bedeutung in bezug auf Schwere der Erkrankung und Letalität hat. Von 9 bzw. 11 Patienten mit LPS im venösen Blut oder Ascites hatten 55% multiple extrapankreatische Komplikationen im Verlauf. Die 8 Patienten mit positiven Befunden gleichzeitig im Blut und Ascites hatten in 5 (63%) der Fälle schwere systemische Insuffizienzen. Analog dazu korrelierten negative Endotoxinbefunde in beiden Körperflüssigkeiten in ca. 80% der Fälle mit einer bzw. keiner zusätzlichen postoperativen Komplikation. Die mathematisch-statistische Signifikanz lag bei $p = 0,05$ im Ascites und bei $p =< 0,05$ im Blut und Blut/Ascites.
Die Untersuchung des Letalitätsrisikos auf Basis der Endotoxinbefunde zeigte, daß ca. 50% der Pa-

tienten mit positivem LPS-Nachweis frühpostoperativ im weiteren Verlauf verstarben (im venösen Blut: 5 von 9 Fällen; im Ascites: 5 von 11 Fällen; im venösen Blut und Ascites: 5 von 8 Fällen). Von 8 bzw. 6 Patienten mit negativem LPS-Befund war einer verstorben (25%). Statistisch ergab sich ein Signifikanzniveau von $p=0,05$ im Ascites und $p = <0,05$ im Blut und Blut/Ascites.

VII. Bei der halbquantitativen Bestimmung von Endotoxin ergab sich tendenziell ein Zusammenhang zwischen Krankheitsverlauf und Höhe des Endotoxinbefundes. Als prägnanter erwiesen sich die qualitativen Ergebnisse.

8. DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurde bei Patienten mit nekrotisierender Pankreatitis das Vorkommen und der Einfluß von Endotoxin gramnegativer Darmbakterien untersucht. Berücksichtigung fand dabei die in tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen diskutierte bakterielle Genese der nekrotisierenden Pankreatitis.

Im Unterschied und in Ergänzung zu den bisherigen Veröffentlichungen wurde hier Endotoxin bei intraoperativ bestätigter nekrotisierender Pankreatitis sowohl in der Nekrose als auch im Blut und Ascites postoperativ über mehrere Tage bestimmt, das Auftreten von LPS in Körperflüssigkeiten und die Dauer der Endotoxinämie in Beziehung zum Vorkommen von extrapankreatischen Organkomplikationen gesetzt.

Die Endotoxinbestimmung erfolgte generell mit dem modifizierten LAL-Test. In Anlehnung an Westphal (81) wurde zur exakten Bestimmung von LPS aus proteinhaltigen Lösungen die Phenolwasserextraktion vorgeschaltet.

Die vorliegende Untersuchung erbrachte bei insgesamt 80% der Fälle einen Endotoxinnachweis in der Pankreasnekrose. Ein 80%iger Anteil positiver Befunde zeigte sich bereits bei einer Nekrosegröße bis 30%, bei der Totalnekrose waren 90-100% der Befunde positiv. Der hohe Nachweis von Endotoxin schon bei relativ geringer Nekrotisierung läßt den Schluß zu, daß Darmbakterien bzw. Endotoxin früh auf den Verlauf der Pankreatitis Einfluß nehmen, wie bereits in der Vergangenheit in tierexperimentellen Studien belegt wurde (25, 38, 39).

Den positiven Endotoxinbefunden im Peritoneum bzw. in der Nekrose entsprachen in dieser Untersuchung 60% positive Keimnachweise. Erklärbar sind diese Differenzen nach Lewin (74) durch die Tatsache, daß Endotoxine häufiger in der Blutbahn nachweisbar sind als Bakterien. Der Nachweis von LPS ist empfindlicher, da Toxine von stationären und zirkulierenden zerfallenden Bakterien nachgewiesen werden.

Am ehesten vergleichbar mit den Ergebnissen in der frühpostoperativen Phase sind, mit allen Einschränkungen aufgrund unterschiedlichen methodischen Vorgehens in bezug auf die Endotoxinbestimmung, sowie die Abnahmefrequenz, die Untersuchungen von Liehr (47) und Foulis (33) über Endotoxinämie bei akuter Pankreatitis. Hatten in der vorliegenden Untersuchung 53% der Patienten eine Endotoxinämie, so ergab sich bei Liehr eine Häufigkeit von 66% und in der Studie von Foulis von 50%. Für die Ergebnisse im Ascites liegen direkt vergleichbare Studien bisher nicht vor.[5)]

Ergab sich bei der qualitativen Bestimmung eine signifikante Korrelation von Endotoxinbefund und Erkrankungsschwere, so zeigte die halbquantitative Bestimmung einen weniger eindeutigen Zusammenhang. Da experimentell ein Zusammenhang zwischen Höhe des Endotoxinspiegels und Ausmaß der Organfunktionsstörungen belegt ist (62), spricht das hier vorliegende Ergebnis eher für eine Beeinflussung durch die Tagesschwankungen des Endotoxins.

---

5) Beger (42) berichtet im Rahmen einer größeren Studie über sechs Patienten mit abzedierender Pankreatitis, die in 100% der Fälle Endotoxin im Ascites aufwiesen.

Als determinierend für die Organkomplikationen und damit verlaufsbestimmend zeigte sich nach der Endotoxinbesiedelung des Pankreas die systemische Ausbreitung von LPS, wie exemplarisch an vier Fällen dargestellt.

Bei der überwiegenden Mehrheit der Fälle mit Nachweis von Endotoxin im venösen Blut und Ascites kam es zu vermehrten Komplikationen im Verlauf der Erkrankung. Entsprechend hatten alle Patienten mit multiplen Organkomplikationen Endotoxin im Blut und Ascites. Insgesamt waren alle Fälle mit renaler und pulmonaler Insuffizienz sowie Peritonitis endotoxinpositiv im Blut und Ascites. In den meisten Fälle betrug die Dauer der Endotoxinämie mehr als 50% der Untersuchungstage. Die Bedeutung des Endotoxins für die Pathogenese der Erkrankung läßt sich verdeutlichen anhand der Fälle mit negativem oder längerfristig positivem Befund. Die erste Gruppe hatte signifikant weniger Komplikationen als die zweite Gruppe.

Analog dazu zeigten sich bei allen später verstorbenen Patienten Endotoxinbefunde sowohl im Blut als auch im Ascites; 5 von 6 Patienten (83%) waren bereits frühpostoperativ positiv.

Diese Ergebnisse bestätigen die Befunde von Liehr (47) und Foulis (33), die in klinischen Untersuchungen einen wahrscheinlichen pathogenetischen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Endotoxin und charakteristischen Organveränderungen bei nekrotisierender Pankreatitis formulierten.

Die klinisch-chemischen Parameter wie Leukozyten, Thrombozyten, Kreatinin und Temperatur zeigten nicht in dem Maße endotoxintypische Veränderungen, wie sie nach

entsprechenden experimentellen Untersuchungen zu erwarten gewesen wären. Es ist davon auszugehen, daß bei diesen Befunden eine Beeinflussung durch therapeutische Interventionen vorliegt (57, 62).

Im Kontext des Zusammenhangs von Endotoxin und der Pathogenese der Pankreatitis ist nun dessen klinische Bedeutung zu diskutieren.

Trotz des offensichtlichen Zusammenhangs von positivem Endotoxinnachweis und Nekrotisierung des Pankreas ließ dieser Befund allein keinen Schluß auf eine systemische Ausbreitung des Prozesses zu, d.h. Patienten mit oder ohne Endotoxinbefund im Pankreas hatten das gleiche postoperative Risiko.

Dagegen wiesen Patienten mit oder ohne Endotoxinnachweis im Blut und Ascites signifikant unterschiedliche postoperative Krankheitsverläufe auf. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß, ausgehend von der Nekrotisierung des Pankreas, die systemische Ausbreitung des Prozesses determinierend für den weiteren Verlauf ist.

Aus klinischer Sicht wäre es nun von besonderer Wichtigkeit, den Zeitpunkt der peripheren Endotoxinausschüttung zu erfassen, bevor es zu systemischen Komplikationen gekommen ist, d.h. die Phase der Endotoxinämie vor dem Übergang zur Endotoxikose.

Dazu wurden in der vorliegenden Untersuchung die Endotoxinbefunde der frühpostoperativen Phase mit den Komplikationen im weiteren Verlauf der Erkrankung bzw. der Letalität verglichen. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Endotoxinnachweis im Blut und

Ascites und dem weiteren Verlauf der Erkrankungung, der auch exemplarisch erhellt wurde.

Abschließend betrachtet lassen die aus den Untersuchungsergebnissen analysierten Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Endotoxin und der Pathogenese der nekrotisierenden Pankreatitis den Schluß zu, daß von einer frühzeitigen Beeinflussung des Krankheitsverlaufes durch LPS ausgegangen werden kann. Damit kann dem Endotoxinnachweis eine wichtige Funktion in der Früherkennung einer Nekrotisierung zugesprochen werden, wobei hier, im Unterschied zu den üblichen klinisch-chemischen Parametern, das toxische Agens direkt nachgewiesen wird.

9. BEANTWORTUNG DER EINGANGS GESTELLTEN FRAGEN

Häufigkeit von Endotoxinbefunden bei Patienten mit nekrotisierender Pankreatitis.

a) Bei der überwiegenden Zahl der Patienten konnte Endotoxin gramnegativer Bakterien anhand des LAL-Testes und der Phenolwasserextraktion in der Nekrose, dem Ascites und dem venösen Blut nachgiewesen werden.

- Endotoxinbefunde in der Pankreasnekrose/Ascites intraoperativ.
  Insgesamt hatten 19 von 24 Patienten (80%) positive LPS-Befunde intraoperativ. Bezogen auf die Nekrosegröße waren 75% der Fälle mit Partialnekrose und 88% mit Subtotal- bzw. Totalnekrose positiv. Der häufigste Wert war 0,1 mg bei einer Spannweite von 100 ug/ml bis 0,1 ng/ml in logarithmischen Stufen.

- Endotoxinbefunde im venösen Blut und Ascites im gesamten Untersuchungszeitraum.
  Von den untersuchten 17 Patienten hatten 12 (71%) im venösen Blut oder Ascites (davon 10 Patienten gleichzeitig im Blut und Ascites) an mindestens einem, durchschnittlich an 2,3 Tagen positive LPS-Nachweise.

- Endotoxinbefunde in der frühpostoperativen Phase.
  Von den 17 Patienten hatten in diesem Zeitraum bereits 9 bzw. 12 im venösen Blut oder Ascites positive Befunde.

b) Endotoxin, Verlaufskomplikationen und prognostische Bedeutung.

- Ergibt sich ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Endotoxin im Körper und dem Verlauf der Erkrankung?
  Entsprechend einem Anteil von 80% positiven Endotoxinnachweisen bereits bei einer Partialnekrose des Pankreas bis 30% ist von einer frühen Beeinflussung der Pankreatitis durch Bakterien bzw. Endotoxin auszugehen.
  Bei überwiegend positiven LPS-Ergebnissen im Pankreas war der weitere Verlauf bestimmt durch die systemische Ausbreitung des Endotoxins, wobei das gleichzeitige Auftreten von LPS im venösen Blut und Ascites am höchsten korreliert war mit mehreren Organkomplikationen bzw. Letalität.

- Hat ein positiver Endotoxinbefund im frühen Krankheitsverlauf prognostische Bedeutung?
  Positive Endotoxinbefunde im Blut oder Ascites wiesen in 55% der Fälle auf einen komplizierten Verlauf und in 50% auf einen letalen Ausgang hin. Eindeutig war die Beziehung zwischen positiven Endotoxinbefunden in Blut und Ascites gleichzeitig und Verlaufkomplikationen bzw. Letalität. Die Signifikanz lag bei $p = 0,05$.

- Lassen sich endotoxintypische Veränderungen an Leukozyten, Thrombozyten, Kreatinin und Temperatur feststellen?
  Die Untersuchung der klinischen Parameter bei Patienten mit oder ohne Endotoxinnachweis im venösen Blut und Ascites auf charakteristische Veränderungen ergab bei Kreatinin- und Thrombozytenwer-

ten deutliche Unterschiede. Die statistische Signifikanzuntersuchung lag bei $p => 0,1$ und war damit nicht ausreichend.

10. LITERATURVERZEICHNIS

1 Beger, H.G.; Krautzberger, W.; Block, S.: Die nekrotisierende Pankreatitis: Operationsergebnisse bei 62 Patienten. In: Häring, R. (Ed.): Die Chirurgie der akuten und chronischen Pankreatitis. Bad Oeynhausen, 101-105 (1980)

2 Beger, H.G.; Block, S.; Bittner, R.; Krautzberger, K.: Die nekrotisierende Pankreatitis. Der Chirurg 12, 783-789 (1982)

3 Sailer, R.; Rötscher, R.: Behandlungsergebnisse der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis. In: Häring, R. (Ed.): Die Chirurgie der akuten und chronischen Pankreatitis. Bad Oeynhausen, 121-123 (1980)

4 Creutzfeld, W.; Lankisch, P.G.: Intensive medical treatment of severe acute pancreatitis. World J. Surg. 5, 341-348 (1981)

5 Seligson, U.; Ihre, I.; Lundh, G.: Prognosis in acute haemorrhagic necrotizing pancreatitis. Acta Chir. Scand. 148, 423-429 (1982)

6 Becker, V.: Akute Pankreatitis, Morphologie, Pathogenese, Prognose. Chirurg 51, 357-363 (1980)

7 Grunst, J.; Baumgartner, G.: Akute Pankreatitis - Klinik, Diagnose und internistische Therapie. Der Chirurg 51, 364-370 (1981)

8 Hartung, H.; Kirchner, R.: Diagnostik und Therapie der akuten Pankreatitis. Leber Magen Darm 10, 1-5 (1980)

9 Kümmerle, F.; Neher, M.: Indikationen und stadiengerechte Therapie der akuten Pankreatitis. In: Häring, R. (Ed.): Die Chirurgie der akuten und chronischen Pankreatitis. Bad Oeynhausen, 89-94 (1980)

10 Höfler, H.: Pankreasnekrose. Dtsch. med. Wschr. 104, 315-317 (1979)

11 Gebhardt, Ch.: Die Bedeutung der Peritonealspülung für die Behandlung der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis. Fortschr. Med. 101, 12, 509-512 (1983)

12 Dabels, J.; Diwok, K.; Gülzow, M.: Nierenschädigung bei akuten Pankreaserkrankungen. Dtsch. Zeitschr. f. Verdauungs- u. Stoffwechselkrankheiten 26, 229-241 (1966)

13 Creutzfeldt, W.; Scheler, F.; Quellhorst, E.; Schmidt, H.: Akutes Nierenversagen bei Pankreatitis. Archiv für Klinische Medizin 213, 197-218 (1967)

14 Beger, H.G.; Krautzberger, W.; Bittner, R.: Die Therapie der diffusen, bakteriellen Peritonitis mit kontinuierlicher postoperativer Peritoneal-Lavage. Chirurg 54, 311-315 (1983)

15 Beger, H.G.; Bittner, R.; Zacherl, H.: Toxische Schockformen. Der Chirurg 53, 74-80 (1982)

16 Lankisch, P.G.: Therapie der akuten Pankreatitis. Tierexperimentelle Untersuchungen. Stuttgart (1980)

17 Lankisch, P.G.; Koop, H.; Winckler, K.; Schmidt, H.: Möglichkeiten und Grenzen der peritonealen Spülbehandlung bei akuter Pankreatitis. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart, 122-129 (1980)

18 Ranson, H.H.C.; Spencer, F.C.: The role of peritoneal lavage in severe acute pancreatitis. Ann. Surgery Vol. 187, 565-575 (1978)

19 Schönborn, H.; Neher, M.; Dormeyer, H.H.: Frühdiagnostik und Klassifizierung bei akuter Pankreatitis. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart, 99-104 (1980)

20 Kümmerle, F.; Neher, M.; Schönborn, H.; Mangold, G.: Vorzeitige Operation bei akuter hämorrhagisch-nekrotisierender Pankreatitis. Deutsche Medizinische Wochenschrift 100, 2241-2245 (1975)

21 Ranson, J.H.C.; Rifkind, K.M.; Roses, D.F.; Fink, S.D.; Eng, K.; Locolio, S.A.: Objective early identification of severe acute pancreatitis. Am. J. Gastroenterology 61, 443-451 (1974)

22 Ranson, J.H.C.: Evaluation of prognostic indices in treating acute pancreatitis. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart, 111-116 (1980)

23 Goebell, H.: Ätiologie und Pathogenese der akuten und chronischen Pankreatitis. In: Häring, R. (Ed.): Die Chirurgie der akuten und chronischen Pankreatitis. Bad Oeynhausen, 11-18 (1980)

24 Ranson, J.H.C.: Aetiological and prognostic factors in human acute pancreatitis: A Review. Am J. Gastroenterology 77, 633-638 (1982)

25 Keynes, W.M.: A nonpancreatic source of the proteolyticenzyme amidase und bacteriology in experimental acute pancreatitis. Annual of Surgery Vol. 191, 187-199 (1980)

26 Becker, V.: Pathological and pathogenesis of acute pancreatitis. World J. Surg. 5, 303-313 (1981)

27 Becker, V.: Morphologie der akuten Pankreatitis. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart, 94-98 (1980)

28 Schmidt, H.; Creutzfeld, W.: The possible role of phospholipase A in the pathogenesis of acute pancreatitis. Scand. J. Gastroent. 4, 39-48 (1969)

29 Neher, M.: Möglichkeiten und Grenzen der operativen Therapie bei akuter Pankreatitis. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart, 129-136 (1980)

30 Becker, V.: Akute Pankreatitis. Funktionelle Morphologie einer eigentümlichen Erkrankung. Zeitschrift f. Gastroenterologie 19, 203-211 (1981)

31 Seelig, R.; Seelig, H.P.: The possible role of serum complement system in the formal pathogenesis of acute pancreatitis. Acta Hepato-Gastroenterol. 22, 263-268 (1975)

32 Kelly, R.H.; Rao, K.N.; Harvey, V.S.; Lombardi, B.: Acute hemorrhagic pancreatic necrosis in mice: Alterations of serum complement. Digestion 22, 1-7 (1981)

33 Foulis, A.K.; Murray, W.R.; Galloway, D.; McCartney, A.C.; Lang, E.; Veitch, J.; Whaley, K.: Endotoxaemia and complement activation in acute pancreatitis in man. Gut 23, 656-661 (1982)

34 Konradt, J.; Boese-Landgraf, J.; Bae, J.: Septische Komplikationen bei der akuten Pankreatitis. In: Häring, R. (Ed.): Die Chirurgie der akuten und chronischen Pankreatitis. Bad Oeynhausen, 125-128 (1980)

35 Kodesch, R.; DuPont, H.L.: Infectious complications of acute pancreatitis. Surgery, Gynecology, and Obstetrics 136, 763-768 (1973)

36 Whitcher, J.T.; Barnes, M.P.; Brown, A.; Cooper, M.J.; Read, R.; Walters, G.; Williamson, R.C.N.: Complement activation and complement control proteins in acute pancreatitis. Gut 23, 944-950 (1982)

37 Thal, A.; Tansathithaya, P.; Egner, W.: An experimental study of bacterial pancreatitis. Surgery, Gynecology, and Obstetrics 103, 459-462 (1956)

38 Byrne, J.J.; Joisen, J.: Bacterial regurgitation in experimental pancreatitis. Am. J. Surgery 107, 317-320 (1964)

39 Williams, L.F., Byrne, J.J.: The role of bacteria in hemorrhagic pancreatitis. Surgery 64, 967-971 (1968)

40 Nance, F.C.; Cain, J.L.: Hemorrhagic pancreatitis in germfree dogs. Surg. Forum 18, 365-367 (1967)

41 Keynes, M.W.; Marks, W.H.: Kommentare zu: "A non-pancreatic source of the proteolytic enzyme amidase and bacteriology in experimental acute pancreatitis". Ann. Surg. 192, 788-792 (1980)

42 Beger, H.G.; Kraas, E.; Hempel, B.: Peritonealdialyse bei bakterieller Peritonitis: Endotoxin als Therapiekriterium. In: Schönborn, H. (Ed.): Intensivmedizin bei gastroenterologischen Erkrankungen. Stuttgart 147-152 (1980)

43 Beger, H.G.; Gögler, H.; Kraas, E.; Bittner, R.: Endotoxin bei bakterieller Peritonitis. Chirurg 52, 81-88 (1981)

44 Krug, M.; Beger, H.G.: Endotoxinblutspiegel bei Patienten mit gramnegativer Peritonitis. Unveröffentlichtes Arbeitspapier (1982)

45 Beger, H.G.; Gögler, H.; Marzinzig, E.: Untersuchungen zur klinischen Wertigkeit des Endotoxinnachweises bei Peritonitis. Langenbecks Arch. Chir., Chir. Forum, Suppl., 39-44 (1981)

46 Beger, H.G.; Kraas, E.; Bittner, R.: Endotoxinschock: Erkennung und Behandlung. Langenbecks Arch. Chir. 352, 307-310 (1980)

47 Liehr, H.; Grün, M.; Brunswig, D.; Sautter, Th.: Endotoxinämie bei Leberzirrhose. Zeitschr. f. Gastroenterologie 1, 14-16 (1976)

48 McCuskey, R.S.; Urbaschek, R. u.a.: In vivo microscopie studie of the response of the liver of endotoxin. Klin. Wochenschr. 601, 749-751 (1982)

49 Wardle, N.: Bactereamic and endotoxic shock. Br. J. Hosp. Medicine 22, 104 (1979)

50 Kass, E.H.; Porter, P.J.; McGill, M.W.; Vivaldi, E.: Clinical and experimental observations of the significance of endotoxemia. J. Infect. Dis. 128, Suppl., 299-305 (1973)

51 Fossard, D.P.; Kakkar, V.v.: The limulus test in experimental and clinical medicine. Br. J. Surg. 61, 798-801 (1974)

52 Caridis, D.T.; Reinhold, R.B.; Woodruff, P.W.H.; Fine, J.: Endotoxemia in man. Lancet I, 1381 (1972)

53 Fine, J.: Acute pancreatitis. Lancet I, 1092 (1975)

54 Liehr, H.; Grün, M.; Seelig, R.; Seelig, H.P.: Endotoxinämie bei akuter Pankreatitis. Leber-Magen-Darm 10, 259-264 (1980)

55 Urbascheck, B.: Zur pathologischen Bedeutung des Endotoxin. Fortschritte der Medizin 93, 1032-1067 (1975)

56 Meßmer, K.; Pathophysiologie des septischen Patienten. In: Lawin, P. et al. (Ed.): Intensivmedizin, Notfallmedizin, Anästhesiologie 37, Stuttgart, 12-26 (1982)

57 Lefer, A.M.; Direct and indirect shock promotion actions of endotoxin. In: Lawin, P. et al. (Ed.): Intensivmedizin, Notfallmedizin, Anästhesiologie 37, Suttgart, 169-177 (1982)

58 Müller, K.M.: Pathologisch-anatomische Organbefunde bei Sepsis. In Lawin, P. et al. (Ed.): Intensivmedizin, Notfallmedizin, Anästhesiologie 37, Stuttgart, 27-44 (1982)

59 Westphal, O.; Jann, K.; Himmelspach, K.: Chemistry and immunochemistry of bacterial lipopolysaccharides as cell wall antigens and endotoxins. Prog. Allergy 33, 9-39 (1983)

60 Lüderitz, O.; Galanos, C.; Rietschel, E.T.: Endotoxins of gram-negative bacteria. Pharmac. Ther. Vol. 15, 383-402 (1982)

61 Elin, R.J.; Wolff, S.M.: Biology of Endotoxin. Ann. Rev. Med. 27, 127-141 (1976)

62 Wildführ, G.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie. Bd. I, 156-161, Leipzig (1976)

63 Urbascheck, B.; Ditter, B.; Urbascheck, R.: The significance of the penetration of endotoxin from the intestinal tract. In: Prog. Clin. Biol. Res. (Endotoxins and their detection with the limulus amebocyte lysate test) 93, 381-384 (1982)

64 Nolan, J.P.; Hare, D.K.; McDevitt, J.J.; Ali, V.: In vitro studies of intestinal endotoxin absorption. In: Kinectis of absorption in the isolated everted gut sac. Gastroenterology 72, 434-439 (1977)

66 Morrison, D.C.; Ulevitch, R.J.: The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. Am. J. Pathology 93, 527-617 (1978)

67 Galanos, C.; Freudenberg, M.A.; Lüderitz, O.; Rietschel, E.T.; Westphal, O.: Chemical, physiochemical and biological properties of bacterial lipopolysaccharides. Biomed. Applications of the horseshoe crab (Limulidae). 321-332 (1979)

68 Lüderitz, O.; Galanos, C.; Lehmann, V.; Nurminen, M.; Rietschel, M.; Rosenfelder, G.; Simon, W.; Westphal, O.: Lipid A: Chemical structure and biological activity. J. infect. dis. Suppl. 128, 517-529 (1973)

69 Rietschel, E.Th.; Schade, U.; Jensen, M.; Wollenweber, H.W.; Lüderitz, O.; Greismann, S.G.: Bacterial endotoxins: Chemical structure, biological activity, and role in septicaemie. Scand. J. Infect. Dis. (1981)

70 Schade, U.; Rietschel, E.Th.: The Role of prostaglandins in endotoxic activities. Klin. Wochenschr. 60, 743-745 (1982)

71 Zacherl, H.: Endotoxinbedingte Thromboxytopenie und Endotoxin-Transport im Blut bei septisch-toxischen Krankheitsbildern. Dissertation, Berlin (1982)

72 Lüscher, E.F.: Die Aktivierung des Gerinnungssystems im Verlauf gramnegativer Infektionen und Endotoxinämien. Fortschritte der Medizin 93, 1037-1041 (1975)

73 Ross, V.C.; Bruch, C.W.: Endotoxin testing of medical devices with LAL: FDA requirements. In: Prog. Clin. Biol. Res. (Endotoxins and their detection with the limulus amebocyte lysate test) 93, 39-48 (1982)

74 Levin, J.: The limulus test and bacterial endotoxins: some perspectives. In: Prog. Clin. Biol. Res. (Endotoxins and their detection with the limulus amebocyte lysate test) 93, 7-24 (1982)

75 Shanbrom, E.: Pyrogenicity versus endotoxicity: which is more significant? In: Prog. Clin. Biol. Res. (Endotoxins and their detection with the limulus amebocyte lysate test) 93, 105-114 (1982)

76 Zacherl, H.; Beger, H.G.; Kade, B.; Marzinzig, E.: Die Phenolwasserextraktion von Endotoxin aus Blut. Unveröffentlichtes Arbeitspapier (1981)

77 Hallmann, F.B.: Klinische Mikrobiologie. 4. neubearbeitete Auflage (1974)

78 persönliche Mitteilung durch Mitarbeiter des Institutes für klinische Mikrobiologie im Klinikum Steglitz (Prof. Hahn), Berlin

79 Beutel, P.; Küffner, H.; Schubö, W.: SPSS 8 - Statistik Programm System für die Sozialwissenschaften nach Nie, H.H. und Hull, C.H., Stuttgart (1980)

80 Biomathematik für Mediziner; Kollegium Biomathematik NW (Ed.), Heidelberg (1975)

81 Westphal, O.; Lüderitz, O.; Biester, F.: Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. Zeitschr. f. Naturforschung 7, 148-155 (1952)

82 Westphal, O.; Jann, K.: Bacterial lipopolysaccharides extraction with phenolwater, a further application of this procedure. In: Whistler, R.L. (Ed.): Methods in Carbohydrate Chemistry. Academic Press Inc. 83 (1965)

83 Müller-Eberhard, H.J.: Komplement, Infektionsabwehr, Entzündung und Schock. In: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Anästhesiologie 37, Stuttgart, 1-11 (1982)

84 Guilfoyle, D.E.; Munson, T.E.: Procedures for improving detection of endotoxins in products found incompatible for direct analysis with limulus amebocyte lysate. In: Prog. Clin. Biol. Res. (Endotoxins and their detection with the limulus amebocyte lysate test) 93, 79-90 (1982)

LEBENSLAUF

14. Nov. 1945	geboren in St. Martin als Tochter des Kunsthistorikers Hans Reetz und der Lehrerin Cilli Reetz, geb. Schaudel
1952 - 1962	Besuch der Grundschule, des Gymnasiums und der Mittelschule in Edenkoben und Landau/Pfalz
1963 - 1969	Kaufmännische Lehre und anschließende Tätigkeit als Kaufmännische Angestellte
1969 - 1971	Erwerb der Hochschulreife am Berlin-Kolleg
ab WS 1971	Studium der Soziologie, FU Berlin
SS 1973 - WS 1979	Studium der Humanmedizin, FU Berlin
Jan. 1980	Approbation
1980 - 1981	Assistenzärztin in der Abt. für Psychiatrie und Neurologie des Kindes- und Jugendalters, Klinikum Westend
1982 - 1983	Arbeit an der Dissertation

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen